

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
21 mai 2004 (21.05.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2004/041841 A2

(51) Classification internationale des brevets⁷ : **C07K**
(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2003/003293

(22) Date de dépôt international :
4 novembre 2003 (04.11.2003)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
02/13792 5 novembre 2002 (05.11.2002) FR

(71) Déposants (pour tous les États désignés sauf US) :
UNIVERSITE DE LA MEDITERRANEE (AIX-MAR-
SEILLE II) [FR/FR]; Jardin du Pharo, 58, boulevard
Charles Livon, F-13284 Marseille Cedex 07 (FR).
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCI-
ENTIFIQUE (CNRS) [FR/FR]; 3, rue Michel-Ange,
F-75794 Paris Cédex 16 (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : RAOULT,
Didier [FR/FR]; 16, rue de Lorraine, F-13008 Marseille
(FR). DRANCOURT, Michel [FR/FR]; 9, Traverse de la
Pauline, F-13012 Marseille (FR).

(74) Mandataire : DOMANGE, Maxime; Cabinet Beau de
Loménie, 232, avenue du Prado, F-13295 Marseille Cedex
08 (FR).

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU,
CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT,
RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (BW, GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet
eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK,
TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Déclaration en vertu de la règle 4.17 :

— relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv)) pour US
seulement

Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée
dès réception de ce rapport

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: MOLECULAR IDENTIFICATION OF BACTERIA OF GENUS *STREPTOCOCCUS* AND RELATED GENUSES

(54) Titre : IDENTIFICATION MOLECULAIRE DES BACTERIES DU GENRE *STREPTOCOCCUS* ET GENRES
APPARENTES

(57) Abstract: The invention concerns a method for detecting by molecular identification a bacterium of one of the species of
genuses *Streptococcus* and four related genera *Enterococcus*, *Gemella*, *Abiotrophia* et *Granulicatella* which consists in using as
probe or primer: the *rpoB* gene or fragment of one said bacterium of sequences SEQ ID N°1 to 3, or an oligonucleotide or a mixture
of oligonucleotides derived from sequences SEQ ID N° 8 to 35, or in particular oligonucleotides of sequences SEQ ID n° 6 and 7.

(57) Abrégé : La présente invention a pour objet un procédé de détection par identification moléculaire d'une bactérie de l'une des
espèces des genres *Streptococcus* et 4 genres apparentés *Enterococcus*, *Gemella*, *Abiotrophia* et *Granulicatella* pour lequel on utilise
comme sonde ou amorce: -le gène ou fragment de gène *rpoB* d'une dite bactérie des séquences SEQ ID N°1 à 3, ou - un oligonu-
cléotide ou mélange d'oligonucléotides tiré des séquences SEQ ID N° 8 à 35, ou notamment les oligonucléotides des séquences SEQ
ID n° 6 et 7.

WO 2004/041841 A2

BEST AVAILABLE COPY

IDENTIFICATION MOLECULAIRE DES BACTERIES DU GENRE *STREPTOCOCCUS* ET GENRES APPARENTES

La présente invention concerne le domaine du diagnostic. Plus
5 précisément, l'invention concerne une méthode pour l'identification moléculaire
des bactéries du genre *Streptococcus* et genres apparentés *Enterococcus*,
Gemella, *Abiotrophia* et *Granulicatella* par les techniques de détection et/ou
d'amplification et séquençage à l'aide de sondes ou d'amorces
oligonucléotidiques appliquées à des souches de ces genres bactériens.

10 Les bactéries du genre *Streptococcus* et de quatre genres apparentés :
Enterococcus, *Gemella*, *Abiotrophia* et *Granulicatella*, sont des bactéries
cocciformes, gram positif et catalase négative dont on reconnaît actuellement
plus d'une quarantaine d'espèces. Les bactéries du genre *Lactococcus*,
précédemment classées parmi les streptocoques comme *Streptococcus* groupe
15 N, n'entrent pas dans le champ de ce brevet du fait de leur rareté en pathologie
humaine, et du fait qu'elles sont facilement discriminées des streptocoques par
leur croissance à + 10°C. Le genre *Streptococcus* comporte officiellement 55
espèces. Le genre *Gemella* comporte 6 espèces, le genre *Abiotrophia* comporte
1 espèce, le genre *Granulicatella* comporte 3 espèces, le genre *Enterococcus*
20 comporte 24 espèces [www.springer-ny.com/bergeysoutline/main.htm]. Ces
espèces sont facilement et fréquemment cultivées à partir de prélèvements
environnementaux, de prélèvements cliniques vétérinaires et de prélèvements
cliniques humains [Ruoff KI. (1999) in Manuel of Clinical Microbiology, pp. 283-
296, ASM press]. Chez l'homme, différentes espèces du genre *Streptococcus*
25 sont responsables d'infections communautaires éventuellement sévères du fait
du caractère invasif des streptocoques considérés ou du fait de la production de
toxines et de manifestations cliniques éventuellement graves à distance du foyer
infectieux. Par exemple, *Streptococcus pyogenes* (Streptocoque groupe A) est
responsable d'angines et de syndromes post-streptococciques incluant le
30 rhumatisme articulaire aigu au cours duquel la destruction des valves cardiaques
par un processus inflammatoire est responsable d'une valvulopathie
éventuellement mortelle. Egalement, plusieurs espèces du genre *Streptococcus*
en particulier les Streptocoques du groupe A, du groupe C, et du groupe G sont

responsables d'infections invasives mortelles en particulier de myosite c'est-à-dire de destruction des tissus cutanés et sous cutanés et du tissu musculaire comme cela a été décrit depuis quelques années. Egalement par exemple *Streptococcus pneumoniae* (pneumocoque) est responsable de pneumonie, de

5 méningite et de septicémie. Par ailleurs, les bactéries des genres *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Gemella*, *Abiotrophia*, et *Granulicatella* sont responsables d'endocardites c'est-à-dire d'infection des valves cardiaques chez l'homme, lesquelles constituent des maladies infectieuses mortelles [Casalta JP et al. Journal Clinical Microbiology, 2002, 40 : 1845-1847]. Egalement, certaines

10 espèces des genres considérés sont responsables d'infections nosocomiales, par exemple, les bactéries du genre *Streptococcus* du groupe A sont responsables de bactériémies qui succèdent à des explorations par endoscopie digestive. Egalement, les bactéries du genre *Enterococcus* sont responsables d'infections urinaires nosocomiales après utilisation d'antibio-prophylaxie par des

15 antibiotiques de la famille des céphalosporines auxquelles elles sont naturellement résistantes. Ces espèces bactériennes posent par ailleurs le problème de leur résistance croissante aux antibiotiques, résistance à la pénicilline G de *Streptococcus pneumoniae* [Garav J. Lancet Infect. Dis. 2002, 2 : 404-415] et résistance à la vancomycine d'*Enterococcus* spp. [Gold H.S. Clin. Infect. Dis. 2001, 33 : 210-219 ; Bonten M.J. et al. Lancet Infect. Dis. 2001,

20 1 : 314-325].

Ces différentes espèces bactériennes posent le problème de leur détection dans les prélèvements pathologiques chez l'homme et de leur identification lorsqu'elles ont été isolées à partir desdits prélèvements. Les

25 méthodes conventionnelles de détection reposent en effet sur la mise en évidence de bactéries cocciformes gram positif, à l'examen direct du produit pathologique. Il est cependant connu que cette détection microscopique des bactéries du genre *Streptococcus* et de genres apparentés dans les prélèvements cliniques a un seuil de sensibilité de 10^4 CFU/ml. Il est donc tout à

30 fait possible qu'un prélèvement pathologique chez l'homme ou chez l'animal contienne une des espèces considérées qui ne soit pas détectée à l'examen microscopique direct de ce prélèvement pathologique. Par ailleurs, bien que leur structure soit celle de bactéries Gram – positif, elles peuvent apparaître

faussement Gram-négatif après coloration de Gram du prélèvement pathologique et donner lieu à une identification erronée ou à une impasse d'identification. Ceci est particulièrement fréquent pour les bactéries du genre *Gemella*. Chez l'homme, c'est en particulier le cas lors de l'examen anatomopathologique et bactériologique des valves cardiaques dans le cas d'une endocardite.

Lorsque qu'une bactérie d'une espèce des genres considérés est isolée au laboratoire, les méthodes conventionnelles d'identification phénotypique sont les plus couramment utilisées pour l'identification des bactéries des espèces du genre *Streptococcus* et des genres apparentés et plusieurs trousse d'identification ainsi que des automates ont été développés pour aider à l'identification phénotypique des bactéries du genre *Streptococcus* et des genres apparentés. Sur ce plan, le degré d'identification en pratique courante est variable. En particulier, un des tests utilisés pour l'identification des Streptocoques et des bactéries des genres apparentés est l'observation d'une réaction hémolytique, c'est-à-dire la destruction par la bactérie des hématies contenues dans une gélose au sang. Cependant cette réaction d'hémolyse peut être inhibée par la présence d'oxygène ou par la présence de peroxyde lorsque les bactéries Streptocoques sont cultivées en présence de concentration importante de dioxyde de carbone. Il est par ailleurs reconnu qu'il existe un certain degré de subjectivité dans l'appréciation de l'hémolyse par les colonies de Streptocoques et donc une variabilité d'inter opérateur qui nuit ensuite à la qualité de l'identification de ces bactéries. Pour les streptocoques alpha-hémolytiques, un deuxième test est celui de la sensibilité à l'optochine qui permet de reconnaître *Streptococcus pneumoniae* qui est sensible à ce composé. Cependant, des souches de *Streptococcus pneumoniae* résistant à l'optochine ont été rapportées [Lund E. Acta Patho. Microbiol. Immunol. Scand. 1959, 47, 308-315]. Un dernier test phénotypique est le sérotypage, ce test peut être faussement positif en particulier pour les streptocoques de séro groupe D du fait d'antigénicité croisée entre les streptocoques du groupe D, *Enterococcus* et *Pedococcus*.

Plusieurs systèmes moléculaires ont été développés pour l'identification de certains sérogroupes ou de certaines espèces du genre *Streptococcus*, en

particulier les streptocoques du groupes A (*Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus intermedius*) et du groupe B (*Streptococcus agalactiae*) [Daly J.A. et al. J Clin Microbiol. 1991, 29 : 80-82 ; Heelan J.S. et al. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 1996, 24 : 65-69] de même que pour *Streptococcus pneumoniae* [Denys G.A. et Carrey R.B. J. Clin. Microbiol. 1992, 30 : 2725-2727] par hybridation de sondes spécifiques ciblant le gène codant l'ARN ribosomal 16S. Egalement, différents systèmes basés sur l'amplification par PCR de gènes codant pour des toxines ou des facteurs de virulence ont été développés pour la discrimination de *Streptococcus pneumoniae* parmi les Streptocoques α -hémolytiques [Salo P. et al. J. Infect. Dis. 1995, 171 : 479-482 ; Morrisson K. et al. J. Clin. Microbiol. 2000, 38, 434-437 ; Kaijalainen T. et al. J. Microbiol. Meth. 2002, 51 : 111-118], ainsi que pour la détection de *Streptococcus agalactiae* [Mawn J.A. et al. J. Clin. Pathol. 1993, 46 : 633-636]. Ces différents systèmes cependant ne permettent l'identification que d'une ou quelques espèces du genre *Streptococcus*.

Un système d'identification de trois espèces de streptocoque a été développé, basé sur l'amplification de l'entretoise 16S-23S [Forsman P. et al. Microbiology, 1997, 143, 3491-3500], mais l'identification n'a été limitée dans ce travail qu'à certaines espèces d'intérêt animal : *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* et *Streptococcus uberis*. Par ailleurs, il est actuellement indispensable de disposer dans les laboratoires de 2 cibles moléculaires distinctes pour la détection et l'identification des streptocoques, ceci afin de pallier les risques de contamination moléculaire inhérents à l'utilisation d'une seule cible.

Enfin, aucun système de détection et d'identification des genres apparentés à *Streptococcus* n'a été développé et plus particulièrement pour les bactéries du genre *Enterococcus*, *Gemella*, *Abiotrophia* et *Granulicatella*.

Les inventeurs ont démontré selon la présente invention, que le gène *rpoB* constitue un marqueur génétique permettant la détection et l'identification spécifique de la bactérie de chaque espèce du genre *Streptococcus* et de 4 genres apparentés : *Enterococcus*, *Gemella*, *Abiotrophia* et *Granulicatella*.

Bien que ce gène ait été précédemment montré comme un outil d'identification bactérienne dans différents genres bactériens, aucune publication

ne fait mention de son utilisation pour l'identification des bactéries des genres *Streptococcus* et des quatre genres apparentés et il n'y avait donc aucune suggestion quant à l'intérêt de la séquence de ce gène pour l'identification des dites bactéries. Au contraire, quelques séquences partielles du gène *rpoB* chez
5 quelques espèces, disponibles dans GenBank montrait une faible hétérogénéité, faisant douter de l'intérêt de ce gène comme outil d'identification pour ces bactéries. Enfin, les inventeurs ont développé un outil d'identification de quatre genres bactériens simultanément, obligeant la mise au point d'amorces dégénérées qui ne pouvaient être déduites d'aucune des séquences *rpoB*
10 déterminées pour chaque espèce.

Plus particulièrement, la présente invention concerne des séquences d'acides nucléiques spécifiques du genre ou de chaque espèce du genre *Streptococcus* et des genres apparentés dont la séquence nucléotidique est tirée du gène *rpoB* des dites bactéries.

15 Selon Lazcano et al. [J. Mol. Evol. (1988) 27 :365-376], les ARN polymérases sont divisées en deux groupes selon leur origine, l'un constitué par les ARN polymérases virales ARN- ou ADN-dépendantes, et l'autre constitué par les ARN polymérases ADN-dépendantes d'origine eucaryote ou procaryotes (archaébactéries et eubactéries). Les ARN polymérases ADN-dépendantes
20 eubactériennes sont caractérisées par une constitution multimérique simple et conservée notée « core enzyme », représentée par $\alpha\beta\beta'$, ou « holoenzyme » représentée par $\alpha\beta\beta'\sigma$ [Yura and Ishihama, Ann. Rev. Genet. (1979) 13 :59-97].

De nombreux travaux ont mis en évidence le rôle fonctionnel, au sein du complexe enzymatique multimérique, de la sous-unité β de l'ARN polymérase
25 eubactérienne. Les ARN polymérases archaébactérienne et eucaryote présentent, pour leur part, une structure plus complexe pouvant atteindre une dizaine, voire une trentaine de sous-unités [Pühlet et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1989) 86 :4569-4573].

Les gènes qui codent les différentes sous-unités $\alpha\beta\beta'\sigma$ de l'ARN
30 polymérase ADN-dépendante chez les eubactéries, respectivement les gènes *rpoA*, *rpoB*, *rpoC* et *rpoD*, sont classés en différents groupes comprenant les gènes codant pour des protéines constitutives des sous-unités ribosomiques ou pour des enzymes impliqués dans la réplication et la réparation du génome

[Yura and Yshihma, Ann. Rev. Genet. (1979) 13 :59-97]. Certains auteurs ont montré que les séquences des gènes *rpoB* et *rpoC* pouvaient être utilisées afin de construire des arbres phylogénétiques [Rowland et al. Biochem. Soc. Trans. (1992) 21 :40S] permettant de séparer les différents embranchements et sous-
5 embranchements parmi les règnes du vivant.

Avant d'exposer plus en détail l'invention, différents termes, utilisés dans la description et les revendications, sont définis ci-après :

- Par « acide nucléique extrait de bactéries » on entend soit l'acide nucléique total, soit l'ADN génomique, soit les ARN messagers, soit encore
10 l'ADN obtenu à partir de la transcription inverse des ARN messagers.
- Un « fragment nucléotidique » ou un « oligonucléotide » sont deux termes synonymes désignant un enchaînement de motifs nucléotidiques caractérisé par une séquence informationnelle des acides nucléiques naturels (ou éventuellement modifiés) et susceptibles de s'hybrider,
15 comme les acides nucléiques naturels, avec un fragment nucléotidique complémentaire ou sensiblement complémentaire, dans des conditions prédéterminées de stringence stricte. L'enchaînement peut contenir des motifs nucléotidiques de structure différente de celle des acides nucléiques naturels. Un fragment nucléotidique (ou oligonucléotide) peut contenir par
20 exemple jusqu'à 100 motifs nucléotidiques. Il contient généralement au moins 8, et en particulier au moins 12 motifs nucléotidiques, en particulier de 18 à 35, et peut être obtenu à partir d'une molécule d'acide nucléique naturelle et/ou par recombinaison génétique et/ou par synthèse chimique.
- Un motif nucléotidique est dérivé d'un monomère qui peut être un
25 nucléotide naturel d'acide nucléique dont les éléments constitutifs sont un sucre, un groupement phosphate et une base azotée choisie parmi l'adénine (A), la guanine (G), l'uracile (U), la cytosine (C), la thymine (T) ; ou bien le monomère est un nucléotide modifié dans l'un au moins des trois éléments constitutifs précédents ; à titre d'exemple, la modification
30 peut intervenir soit au niveau des bases, avec des bases modifiées telles que l'inosine, qui peut s'hybrider avec toute base A, T, U, C ou G, la méthyl-5-désoxycytidine, la désoxyuridine, la diméthylamino-5-désoxyuridine ou toute autre base modifiée capable d'hybridation, soit au

niveau du sucre, par exemple le remplacement d'au moins un désoxyribose par un polyamide [Nielsen PE et al., Science (1991) 254:1497-1500], soit encore au niveau du groupement phosphate, par exemple par remplacement par des esters choisis notamment parmi les

5

Par « hybridation », on entend le processus au cours duquel, dans des conditions appropriées, deux fragments nucléotidiques ayant des séquences suffisamment complémentaires sont susceptibles de s'associer par des liaisons hydrogène stables et spécifiques, pour former un double brin. Les conditions d'hybridation sont déterminées par la « stringence », c'est à dire la rigueur des conditions opératoires. L'hybridation est d'autant plus spécifique qu'elle est effectuée à plus forte stringence. La stringence est fonction notamment de la composition en bases d'un duplex sonde/cible, ainsi que par le degré de mésappariement entre deux acides nucléiques. La stringence peut également être fonction des paramètres de la réaction d'hybridation, tels que la concentration et le type d'espèces ioniques présentes dans la solution d'hybridation, la nature et la concentration d'agents dénaturants et/ou la température d'hybridation. La stringence des conditions dans lesquelles une réaction d'hybridation doit être réalisée dépend notamment des sondes utilisées. Toutes ces données sont bien connues et les conditions appropriées peuvent éventuellement être déterminées dans chaque cas par des expériences de routine. En général, selon la longueur des sondes utilisées, la température pour la réaction d'hybridation est comprise entre environ 20 et 65°C, en particulier entre 35 et 65°C dans une solution saline à une concentration d'environ 0,8 à 1 M.

10

15

20

25

- Une « sonde » est un fragment nucléotidique possédant une spécificité d'hybridation dans des conditions déterminées pour former un complexe d'hybridation avec un acide nucléique ayant, dans le cas présent, une séquence nucléotidique comprise soit dans un ARN messager, soit dans un ADN obtenu par transcription inverse dudit ARN messager, produit de transcription ; une sonde peut être utilisée à des fins de diagnostic (notamment sondes de capture ou de détection) ou à des fins de thérapie,

30

- Une « sonde de capture » est une sonde immobilisée ou immobilisable sur un support solide par tout moyen approprié, par exemple par covalence, par adsorption, ou par synthèse directe sur un solide. Des exemples de supports comprennent les plaques de microtitration et les puces à ADN.
- 5 - Une « sonde de détection » est une sonde marquée au moyen d'un agent marqueur choisi par exemple parmi les isotopes radioactifs, les enzymes, en particulier les enzymes susceptibles d'agir sur un substrat chromogène, fluorigène ou luminescent (notamment une peroxydase ou une phosphatase alcaline), les composés chimiques chromophores, les
10 composés chromogènes, fluorigènes ou luminescents, les analogues des bases nucléotidiques et les ligands tels que la biotine.
- Une « sonde d'espèce » est une sonde permettant l'identification spécifique de l'espèce d'une bactérie.
- Une « sonde de genre » est une sonde permettant l'identification
15 spécifique du genre d'une bactérie.
- Une « amorce » est une sonde comprenant par exemple 10 à 100 motifs nucléotidiques et possédant une spécificité d'hybridation dans des conditions déterminées pour les réactions d'amplification enzymatique.
- Par « réaction d'amplification » on entend une réaction de polymérisation
20 enzymatique, par exemple dans une technique d'amplification telle que la PCR, initiée par des oligonucléotides amorces et utilisant une ADN polymérase.
- Par « réaction de séquençage », on entend l'obtention de la séquence d'un fragment d'acide nucléique ou d'un gène complet par un procédé de
25 polymérisation abortive à partir d'amorces oligonucléotidiques et utilisant lesdits didésoxynucléotides (Sanger F, Coulson AR (1975), J.Mol.Biol. 94 : 441) ou hybridations multiples avec des sondes multiples fixées sur support solide telles qu'utilisées dans les puces ADN par exemple.

Les séquences des gènes *rpoB* des bactéries *Streptococcus pneumoniae*,
30 *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mutans* et *Streptococcus agalactiae* ont été décrites dans la littérature.

Les inventeurs ont déterminé les séquences complètes des gènes *rpoB* d'autres espèces de bactéries du genre *Streptococcus* et apparentées:

Streptococcus anginosus et *Streptococcus equinus*, d'*Abiotrophia defectiva*, et une très large portion du gène pour *Streptococcus mutans* et *Enterococcus faecalis*. Ces espèces ont été choisies par les inventeurs comme représentant les principaux groupes génétiques déterminés sur la base de l'étude du gène 5 16S dans les bactéries du genre *Streptococcus* et genres apparentés, encadrant l'ensemble des espèces actuellement décrites dans ce genre, de sorte que l'alignement des séquences *rpoB* obtenues chez ces espèces puisse encadrer vraisemblablement l'ensemble des séquences *rpoB* de toutes les espèces de ces genres bactériens plus précisément, il s'agit donc des espèces 10 phylogénétiquement les plus divergentes parmi l'ensemble des espèces actuellement décrites dans ce genre, de sorte que l'alignement des séquences *rpoB* obtenu chez ces espèces puisse encadrer phylogénétiquement vraisemblablement l'ensemble des séquences *rpoB* de toutes les espèces de ce genre bactérien.

15 A partir de ces séquences complètes ou quasi complètes et après de nombreuses tentatives infructueuses tel que rapporté dans les exemples 1 et 2 ci-après, les inventeurs ont mis en évidence les séquences consensus et spécifiques SEQ.ID. n° 6 et 7 suivantes :

- SEQ ID N° 6 : 5' AARYTNGGMCCTGAAGAAAT-3', et
 - 20 - SEQ ID N°7: 5'-TGNARTTTTRTCATCAACCATGTG-3',
- dans lesquelles :
- N représente l'inosine ou l'un des 4 nucléotides A, T, C ou G,
 - R représente A ou G,
 - M représente A ou C, et
 - 25 - Y représente C ou T,

et les séquences inverses et séquences complémentaires.

Les inventeurs ont déterminé lesdites séquences SEQ.ID.n°6 et 7 comme étant non seulement consensuelles entre toutes les bactéries du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés mais en outre spécifiques de la 30 famille des bactéries du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés.

A la position correspondant à un nucléotide N, Y, M ou R dans les séquences SEQ.ID. n°6 et 7 on trouve des nucléotides variables dans les séquences cibles complémentaires en fonction de l'espèce de la bactérie

considérée, mais tous les autres nucléotides sont conservés dans toutes les espèces des bactéries du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés.

Des séquences SEQ.ID n°6 et 7 ainsi définies sont présentes dans les gènes *rpoB* de toute bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres
5 apparentés et spécifiques des bactéries du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés et peuvent donc fournir des sondes de genre ou des amorces d'amplification pour détecter toute bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés.

A cet effet, la présente invention a donc pour objet un oligonucléotide qui
10 comprend une séquence d'au moins 8, de préférence au moins 12, de préférence encore de 18 à 35, motifs nucléotidiques, dont au moins une séquence de 8, de préférence 12, de préférence encore 18 motifs consécutifs inclus dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 6 et 7 suivantes :

- SEQ ID N° 6 : 5' AARYTNGGMCCTGAAGAAAT-3', et
- 15 - SEQ ID N°7: 5'-TGNARTTTTRTCATCAACCATGTG-3',

dans lesquelles :

- N représente l'inosine ou l'un des 4 nucléotides A, T, C ou G,
- R représente A ou G,
- M représente A ou C, et
- 20 - Y représente C ou T,

et les séquences inverses et séquences complémentaires.

La présente invention a également pour objet un mélange d'oligonucléotides, caractérisé en ce qu'il est constitué d'un mélange équimolaire de d'oligonucléotides selon l'invention, ayant tous une séquence différente et
25 comprenant tous une séquence incluse dans SEQ ID n°6 ou tous une séquence incluse dans SEQ ID n°7.

Plus particulièrement, la présente invention a également pour objet un mélange de dits oligonucléotides, constitué d'un mélange équimolaire de 32 oligonucléotides de séquences différentes comprenant chacune au moins 15, de
30 préférence encore au moins 18 motifs nucléotidiques consécutifs inclus dans la séquence suivante :

- SEQ ID N° 6 : 5' AARYTNGGMCCTGAAGAAAT-3',
- dans laquelle :

- R représente A ou G,
- Y représente C ou T,
- M représente A ou C, et
- N représente A, T, C ou G,

5 et les séquences inverses et séquences complémentaires.

La présente invention a également pour objet un mélange de dits oligonucléotides, constitué d'un mélange équimolaire de 8 oligonucléotides de séquences différentes comprenant chacune au moins 15, de préférence encore au moins 18 motifs nucléotidiques consécutifs inclus dans la séquence suivante :

10 - SEQ ID N° 6 : 5' AARYTNGGMCCTGAAGAAAT-3',

dans laquelle :

- R représente A ou G,
- Y représente C ou T,
- M représente A ou C, et
- 15 - N représente l'inosine,

et les séquences inverses et séquences complémentaires.

La présente invention a également pour objet un mélange de dits oligonucléotides, constitué d'un mélange équimolaire de 16 oligonucléotides de séquences différentes comprenant chacune au moins 15, de préférence encore au moins 21 motifs nucléotidiques consécutifs inclus dans la séquence suivante :

20 - SEQ ID N°7: 5'-TGNARTTTTRTCATCAACCATGTG-3',

dans laquelle :

- R représente A ou G, et
- N représente A, T, C ou G,

25 et les séquences inverses et séquences complémentaires.

La présente invention a également pour objet un mélange de dits oligonucléotides, constitué d'un mélange équimolaire de 4 oligonucléotides de séquences différentes comprenant chacune au moins 15, de préférence encore au moins 21 motifs nucléotidiques consécutifs inclus dans la séquence suivante :

30 - SEQ ID N°7: 5'-TGNARTTTTRTCATCAACCATGTG-3',

dans laquelle :

- R représente A ou G, et
- N représente l'inosine,

et les séquences inverses et séquences complémentaires.

Lesdits mélanges d'oligonucléotides peuvent s'hybrider avec une séquence complémentaire incluse dans le gène *rpoB* de toutes les bactéries du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés et peuvent donc être
5 utilisés à titre de sonde de genre ou amorces d'amplification pour la détection ou respectivement l'amplification d'un fragment de gène *rpoB* d'une dite bactérie.

Pour préparer un dit mélange équimolaire d'oligonucléotides selon les synthèses d'oligonucléotides connues de l'homme de l'art, il suffit de mettre en œuvre un mélange équimolaire de 4 ou 2 nucléotides pour les nucléotides
10 correspondant à N ou respectivement K, N, R ou Y, à savoir :

- un mélange équimolaire des 4 nucléotides, A, T, C et G pour les nucléotides correspondant à N dans lequel N représente A, T, C ou G, et
- un mélange équimolaire des 2 nucléotides T et G pour les nucléotides correspondant à K,
- 15 - un mélange équimolaire des 2 nucléotides A et C pour les nucléotides correspondant à N,
- un mélange équimolaire des 2 nucléotides A et G pour les nucléotides correspondant à R, et
- un mélange équimolaire des 2 nucléotides C et T pour un nucléotide
20 représenté par Y.

On obtient ainsi un mélange équimolaire de 32 ($2^3 \times 4$) et 16 ($2^2 \times 4$) nucléotides de séquences différentes pour respectivement les 2 séquences SEQ ID n°6 et 7.

Dans lesdits mélanges équimolaires d'oligonucléotides selon l'invention,
25 du fait que « N » représente l'inosine qui peut s'hybrider avec toute base ou un mélange équimolaire des 4 bases A, T, C, G, les séquences SEQ.ID.n° 6 et 7 peuvent s'hybrider avec la séquence complémentaire incluse dans le gène *rpoB* de toutes les bactéries du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés.

En outre, ces séquences consensus SEQ.ID. n° 6 et SED ID n° 7
30 encadrent des séquences hyper variables dont la séquence est spécifique pour chaque espèce de bactérie du genre *Streptococcus*. Ces séquences encadrées par SEQ.ID. n° 6 et 7 peuvent donc être utilisées à titre de sonde d'espèce des bactéries du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés.

De plus, les séquences SEQ.ID. n°6 et 7 ont été déterminées comme encadrant un fragment du gène *rpob* comprenant une zone dont la longueur variable est d'environ 720 pb et comme comprenant les plus courtes séquences spécifiques pour chaque espèce de la bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés.

Les inventeurs ont ainsi pu mettre en évidence des sondes d'espèce pour chacune des 28 espèces de bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés étudiées correspondant aux séquences SEQ.ID.n° 8 à 35 décrites à l'exemple 2 ci-après, encadrées par les séquences consensus SEQ.ID.n° 6 et 7.

Un autre objet de la présente invention est un gène ou fragment de gène *rpob* d'une bactérie du genre *streptococcus* ou d'un desdits 4 genres apparentés, excepté les séquences SEQ ID n°11, 12, 14 et des bactéries *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus mutans* et *Streptococcus agalactiae*, les séquences inverses et séquences complémentaires, caractérise en ce qu'il comprend une séquence telle que décrite dans les séquences SEQ ID n° 8 à 35 décrites à l'exemple 2;

Un autre objet de la présente invention est la séquence complète du gène *rpob* des bactéries, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus equinus* et *Abiotrophia defectiva* telles que décrites dans les séquences SEQ.ID. n° 1 à 3, utiles notamment pour un procédé selon l'invention.

Un autre objet de la présente invention est la séquence quasi complète du gène *rpob* de la bactérie *Enterococcus faecalis* telle que décrite dans la séquence SEQ.ID n° 5, utile notamment pour un procédé selon l'invention.

Dans les séquences SEQ.ID n° 1 à 3 et 5 et 8 à 35 décrites dans le listage de séquences en fin de description :

- le nucléotide M représente A ou C,
- le nucléotide K représente T ou G,
- le nucléotide R représente A ou G,
- le nucléotide W représente A ou T,
- le nucléotide Y représente C ou T,
- le nucléotide N représente A, T, C, G ou I,
- le nucléotide S représente C ou G,
- le nucléotide V représente A, C ou G.

Les séquences consensus tirées de SEQ.ID.n° 6 et 7 mises en évidence selon la présente invention, peuvent être utilisées à titre de sonde de genre, d'amorce d'amplification ou de réaction de séquençage dans des procédés de détection de bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés par
5 identification moléculaire.

Les séquences tirées des séquences SEQ.ID.n° 6 et 7 permettent donc non seulement de préparer des sondes de genre des bactéries du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés mais aussi de détecter et identifier l'espèce de ladite bactérie par amplification et séquençage en utilisant lesdites
10 séquences comme amorces.

La séquence complète du gène *rpoB* peut être utilisée pour identifier la bactérie pas seulement par l'étude de sa séquence primaire, mais aussi, par l'étude des structures secondaire et tertiaire de l'ARN messager provenant de la transcription de la séquence complète d'ADN.

15 Un autre objet de la présente invention est un oligonucléotide ou un fragment de gène *rpoB* ayant une séquence comprise ou consistant dans les séquences SEQ.ID.n°8 à 35, y compris donc les séquences SEQ ID n°11, 12, 14 et 22 des bactéries *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus mutans* et respectivement *Streptococcus agalactiae* et parmi les
20 oligonucléotides ou fragments de séquences inverses ou complémentaires tels que définis ci-dessus.

Les inventeurs, après analyse des différentes séquences, ont déterminé par comparaison deux à deux de toutes les séquences SEQ ID n°8 à 35, que, le taux d'homologie entre deux séquences différentes parmi lesdites séquences SEQ ID n°8 à 35 est au maximum de 98,7%. En dessous de 98,7% d'homologie entre les séquences, celles-ci identifient des bactéries d'espèces différentes. En conséquence, la présente invention a également pour objet des oligonucléotides ou des fragments de gènes *rpoB* de séquences comprises ou consistant dans lesdites séquences SEQ ID n°8 à 35, les séquences inverses, les séquences complémentaires ainsi que dans les séquences présentant au moins 98,7% d'homologie (c'est-à-dire un taux d'au moins 98,7% de similitude dans les séquences) par rapport aux dites séquences SEQ ID n°8 à 35, les séquences inverses et respectivement séquences complémentaires.

Les oligonucléotides, fragments de gène et gènes objets de la présente invention, ont été décrits comme comportant des séquences d'ADN, c'est-à-dire avec des oligonucléotides A, T, C et G. Toutefois, la présente invention a également pour objet des oligonucléotides comprenant des séquences d'ARN correspondantes, c'est-à-dire dans lesquelles T est remplacé par U.

Dans la présente description, on entend par "séquences inverses et séquences complémentaires", les séquences suivantes :

- la séquence inverse de ladite séquence,
- la séquence complémentaire de ladite séquence, et
- la séquence complémentaire de la séquence inverse de ladite séquence.

Les séquences SEQ.I. n°1 à 35 peuvent être préparées par génie génétique et/ou par synthèse chimique, notamment par synthèse automatique, en utilisant les techniques bien connues de l'homme du métier.

Une première application d'un oligonucléotide selon l'invention est son utilisation comme sonde pour la détection, dans un échantillon biologique, de bactéries de l'une des espèces du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés qui comprend une séquence nucléotidique dans l'une des séquences SEQ.ID. n°6 à 35, et leurs séquences inverses ou complémentaires.

Un oligonucléotide comprenant les séquences SEQ.ID.n° 6 et 7 sera utilisé à titre de sonde de genre et un oligonucléotide comprenant une

séquence comprise dans ou comprenant l'une des séquences SEQ.ID. n° 8 à 35, sera utilisée à titre de sonde d'espèce.

Plus particulièrement, la présente invention a pour objet un oligonucléotide comprenant une séquence spécifique d'une espèce d'une
5 bactérie du genre streptococcus et dits genres apparentés, de préférence d'au moins 20 nucléotides consécutifs, de préférence encore au moins 30 nucléotides consécutifs inclus dans l'une des dites séquences SEQ ID n°8 à 35, ou le cas échéant un mélange équimolaire de dits oligonucléotides de séquences différentes.

10 De préférence, lesdites séquences comprises dans l'une des séquences SEQ ID n°8 à 35, ayant de préférence au moins 20 nucléotides, de préférence encore au moins 30 nucléotides consécutifs inclus dans l'une des séquences SEQ ID n°8 à 35, constituent les séquences spécifiques des différentes espèces respectives les plus courtes, utilisables comme sonde d'espèces des bactéries
15 *Streptococcus* et des dits 4 genres apparentés concernées.

Les sondes selon l'invention peuvent être utilisées, à des fins de diagnostic, comme mentionné précédemment, par la détermination de la formation ou de l'absence de formation d'un complexe d'hybridation entre la sonde et un acide nucléique cible dans un échantillon, selon toutes les
20 techniques d'hybridation connues et notamment les techniques de dépôt ponctuel sur filtre, dites « DOT-BLOT » [Maniatis et al. (1982) Molecular Cloning, Cold Spring Harbor], les techniques de transfert d'ADN dites « SOUTHERN BLOT » [Southern E.M., J. Mol. Biol. (1975) 98 :503], les techniques de transfert d'ARN dites « NORTHERN BLOT », ou les techniques
25 dites « sandwich », en particulier avec une sonde de capture et/ou une sonde de détection, lesdites sondes étant capables de s'hybrider avec deux régions différentes de l'acide nucléique cible, et l'une au moins desdites sondes (généralement la sonde de détection étant capable de s'hybrider avec une région de la cible qui est spécifique de l'espèce, étant entendu que la sonde de
30 capture et la sonde de détection doivent avoir des séquences nucléotidiques au moins partiellement différentes.

L'acide nucléique à détecter (cible) peut être de l'ADN ou de l'ARN (le premier obtenu après amplification par PCR). Dans le cas de la détection d'une

cible de type acide nucléique double brin, il convient de procéder à la dénaturation de ce dernier avant la mise en œuvre du procédé de détection. L'acide nucléique cible peut être obtenu par extraction selon les méthodes connues des acides nucléiques d'un échantillon à examiner. La dénaturation
5 d'un acide nucléique double brin peut être effectuée par les méthodes connues de dénaturation chimique, physique ou enzymatique, et en particulier par chauffage à une température appropriée, supérieure à 80°C.

Pour mettre en œuvre les techniques d'hybridation précitées, et en particulier les techniques « sandwich », une sonde de l'invention, appelée sonde
10 de capture est immobilisée sur un support solide, et une autre sonde de l'invention, appelée sonde de détection, est marquée avec un agent marqueur. Les exemples de support et d'agent marqueur sont tels que définis précédemment.

De manière avantageuse, une sonde d'espèce est immobilisée sur un
15 support solide, et une autre sonde d'espèce est marquée par un agent marqueur.

Une autre application d'un oligonucléotide de l'invention est son utilisation comme amorce nucléotidique comprenant une oligonucléotide monocaténaire choisi parmi les oligonucléotides ayant une séquence d'au moins 12 motifs
20 nucléotidiques inclus dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 6 à 35, qui est utilisable dans la synthèse d'un acide nucléique en présence d'une polymérase par un procédé connu en soi, notamment dans des méthodes d'amplification utilisant une telle synthèse en présence d'une polymérase (PCR, RT-PCR, etc.). En particulier, une amorce de l'invention peut être utilisée pour la transcription
25 inverse spécifique d'une séquence d'ARN messager de bactérie d'une espèce du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés pour obtenir une séquence d'ADN complémentaire correspondante. Une telle transcription inverse peut constituer le premier stade de la technique RT-PCR, le stade suivant étant l'amplification par PCR de l'ADN complémentaire obtenu. On peut également
30 utiliser les amorces de l'invention pour l'amplification spécifique par réaction de polymérisation en chaîne de la séquence totale de l'ADN du gène *rpoB* d'une espèce du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés.

Selon un cas particulier ladite amorce comprenant un oligonucléotide de l'invention comprend en outre la séquence sens ou anti-sens d'un promoteur reconnu par une ARN polymérase (promoteurs T7, T3, SP6 par exemple [Studier FW, BA Moffatt (1986) J. Mol. Biol. 189 :113] : de telles amorces sont
5 utilisables dans des procédés d'amplification d'acide nucléique faisant intervenir une étape de transcription, tels que, par exemple, les techniques NASBA ou 3SR [Van Gemen B. et al. Abstract MA 1091, 7th International Conference on AIDS (1991) Florence, Italy].

Un autre objet de l'invention est une amorce nucléotidique comprenant un
10 oligonucéotide choisi parmi les oligonucléotides ayant une séquence comprenant l'une des séquences SEQ ID n° 6 à 35 ou une séquence incluse dans SEQ.ID. n° 6 à 35 qui est utilisable pour le séquençage total ou partiel du gène *rpoB* d'une souche quelconque d'une espèce du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés.

15 Le séquençage du gène *rpoB* partiel ou complet chez toute bactérie du genre *Streptococcus* et genres apparentés permet l'identification de toute bactérie *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés par analyse bio informatique de cette séquence et la reconnaissance de nouvelles espèces de bactéries *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés inconnues.

20 De préférence, dans une utilisation comme amorce ou pour le séquençage des gènes *rpoB*, on utilise un dit mélange d'oligonucléotides selon l'invention, et de préférence encore des dits mélanges d'oligonucléotides consistant dans les séquences SEQ ID n°6 et SEQ ID n°7.

Plus précisément, la présente invention fournit un procédé de détection
25 par identification d'une bactérie de l'une des espèces du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés caractérisé en ce qu'on utilise :

- un gène *rpoB* complet ou quasi complet de ladite bactérie selon la présente invention ainsi qu'un gène ou fragment de gène *rpoB* d'une bactérie *streptococcus pyogenes*, *streptococcus pneumoniae*,
30 *streptococcus mutans* et *streptococcus agalactiae* comprenant une séquence telle que décrite respectivement dans les séquences SEQ ID n°11, 12, 14 et 22, les séquences inverses et les séquences complémentaires, utiles notamment comme sonde d'espèces et/ou

- 5 - un dit fragment dudit gène *rpoB* de ladite bactérie selon la présente invention, comprenant une séquence nucléotidique choisie parmi l'une des séquences SEQ.ID.n° 8 à 35, les séquences inverses et les séquences complémentaires, utile notamment comme sonde d'espèces, et/ou
- un oligonucléotide selon la présente invention comprenant une séquence incluse dans l'une des séquences SEQ ID n°8 à 35, les séquences inverses et les séquences complémentaires, utile notamment comme sonde d'espèces, et/ou
- 10 - un oligonucléotide ou dit mélange d'oligonucléotides selon la présente invention comprenant une séquence constituée de motifs nucléotidiques consécutifs, inclus dans l'une des séquences SEQ.ID.n°6 et 7, utile notamment comme sonde de genre ou amorce d'amplification.

15 De préférence, dans ledit procédé de détection selon l'invention, on utilise :

- un dit fragment du gène *rpoB* de ladite bactérie comprenant une séquence choisie parmi l'une des séquences SEQ ID n° 8 à 35 ou un oligonucléotide de séquence comprise dans l'une des dites séquences SEQ ID
- 20 n°8 à 35, les séquences inverses et séquences complémentaires, et/ou
- au moins un dit mélange d'oligonucléotides selon la présente invention, dont les séquences de préférence consistent dans les séquences SEQ ID n° 6 et 7, et leurs séquences inverses et séquences complémentaires dans lesquelles de préférence encore N représente l'inosine.

25 Dans un premier mode de réalisation d'un procédé de détection selon l'invention, on cherche à mettre en évidence la présence d'une bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés, on réalise les étapes dans lesquelles :

- 30 1. on met en contact au moins une sonde de genre comprenant un dit mélange d'oligonucléotides de séquences comprenant ou comprises dans l'une des séquences SEQ.ID.n° 6 et 7, les séquences inverses ou les séquences complémentaires selon l'invention, avec un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins

une telle bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés, et

2. on détermine la formation ou l'absence de formation d'un complexe d'hybridation entre ladite sonde de genre et les acides nucléiques de l'échantillon, et on détermine la présence d'une dite bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés s'il y a formation d'un complexe d'hybridation.

Dans une deuxième mode de réalisation d'un procédé de détection d'une bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés, on réalise les étapes dans lesquelles :

1. On met en contact des amorces d'amplification comprenant desdits mélanges d'oligonucléotides comprenant une séquence incluse dans lesdites séquences SEQ.ID. n° 6 et 7, séquences inverses et séquences complémentaires selon l'invention, avec un échantillon contenant ou susceptibles de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés avec :

- comme amorce 5' : un dit mélange d'oligonucléotides comprenant une séquence incluse dans la séquence SEQ.ID.n° 6, ou de préférence consistant dans ladite séquence SEQ ID n° 6 complète, ou une séquence complémentaire selon l'invention ;
- comme amorce 3' : un dit mélange d'oligonucléotides comprenant une séquence incluse dans la séquence la séquence SEQ.ID.n° 7 ou de préférence consistant dans ladite séquence SEQ ID n° 7 complète, ou respectivement une séquence complémentaire selon l'invention.

2. On réalise une amplification d'acides nucléiques par réaction de polymérisation enzymatique et on détermine l'apparition ou l'absence d'un produit d'amplification, et on détermine ainsi la présence d'une dite bactérie dans l'échantillon si un produit d'amplification est apparu.

Ce deuxième mode de réalisation peut être utilisé pour détecter spécifiquement le genre d'une bactérie du genre *streptococcus* ou desdits 4 genres apparentés.

Mais, à l'étape 2 de ce deuxième mode de réalisation, on peut chercher à détecter spécifiquement une espèce donnée d'une bactérie du genre *Streptococcus* choisie parmi les espèces *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus suis*, *Streptococcus acidominimus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus difficilis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus equi*, *Streptococcus equinus*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus bovis*, *Granulicatella adjacens*, *Abiotrophia defectiva*, *Enterococcus avium*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus saccharolyticus*, *Gemella haemolysans* et *Gemella morbillorum*, comme décrit dans la variante de réalisation d'un procédé de détection spécifique d'une espèce de dites bactéries, décrite ci-après

Comme cela a été précédemment exposé en introduction, les genres *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Granulicatella*, *Abiotrophia*, et *Gemella* comportent plus d'espèces bactériennes que celles qui ont été effectivement séquencées dans ce travail. Toutefois, les espèces séquencées ont été choisies telles qu'elles encadrent toutes les espèces connues dans ces genres bactériens et sont en nombre suffisant pour démontrer l'application de la séquence *rpoB* à l'identification des espèces de ces genres.

Dans une variante de réalisation d'un procédé de détection spécifique d'une espèce des dites bactéries selon l'invention, on réalise les étapes dans lesquelles :

1- on met en contact un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie, avec au moins une sonde d'espèce consistant dans un dit gène, dit fragment de gène ou dit oligonucléotide comprenant une séquence incluse dans l'une des séquences SEQ.ID n° 8 à 35, de préférence un oligonucléotide consistant dans l'une des dites séquences SEQ.ID. n° 8 à 35, les séquences inverses et séquences complémentaires selon l'invention, et

2- on détermine la formation ou l'absence d'un complexe d'hybridation entre ladite sonde et les acides nucléiques de l'échantillon, et on détermine ainsi

la présence de ladite bactérie dans l'échantillon s'il y a formation d'un complexe d'hybridation.

Dans une autre variante de réalisation du procédé selon l'invention dans lequel on cherche à détecter spécifiquement une espèce donnée d'une bactérie
5 du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés choisie parmi les 28 espèces citées ci-dessus, le procédé comprend les étapes dans lesquelles, dans un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une dite bactérie :

a) on réalise une réaction de séquençage d'un fragment du gène *rpoB*
10 amplifié d'une dite bactérie donnée à l'aide des amorces nucléotidiques consistant dans desdits mélanges d'oligonucléotides comprenant des séquences incluses dans la séquence SEQ.ID. n° 6 comme amorce 5', et SEQ.ID. n° 7 comme amorce 3', de préférence les séquences consistant dans lesdites séquences SEQ.ID. n° 6 et 7, et leurs
15 séquences complémentaires, et

b) on détermine la présence ou l'absence de l'espèce donnée de ladite
bactérie en comparant la séquence dudit fragment obtenu avec la séquence du gène complet *rpoB* de ladite bactérie ou la séquence d'un fragment du gène *rpoB* de ladite bactérie comprenant lesdites
20 séquences n° 8 à 35 et séquences complémentaires selon l'invention, et on détermine ainsi la présence de ladite bactérie dans l'échantillon si la séquence du fragment obtenue est identique à la séquence connue du genre ou du fragment de gène *rpoB* de ladite bactérie.

La présente invention a également pour objet une trousse de
25 diagnostic utile dans un procédé selon l'invention comprenant au moins un dit fragment de gène ou dit oligonucléotide de séquence comprise ou consistant dans les séquences SEQ.ID. n° 8 à 35 ou un dit oligonucléotide ou mélange d'oligonucléotides comprenant une séquence incluse dans une des séquences SEQ.ID. n° 6 et 7, et/ou au moins un dit fragment de gène *rpoB* d'une dite
30 bactérie comprenant les séquences SEQ.ID. n° 8 à 35, et les séquences complémentaires selon l'invention.

Avantageusement, un trousse selon la présente invention comporte des dits oligonucléotides sous forme de "biopuces", c'est-à-dire fixés sur des

supports solides, notamment en verre, selon le procédé décrit dans le brevet US 5 744 305 (Affymetrix, Fodor et al) en utilisant la stratégie de reséquençage décrite dans la demande WO 95/11995 (Affymax, Chee et al) ou selon la méthode décrite par A Troesch et al. dans J. Clin. Microbiol., vol. 37(1), p 49-55, 5 1999. Les oligonucléotides synthétisés sur la "biopuce" réalisent le re- séquençage de la région hyper variable du gène rpoB. Ce procédé présente un avantage considérable en terme de coût de production et sans compromis sur la qualité de l'identification des différentes espèces de part le choix de ces séquences d'identification. De préférence, ces oligonucléotides fixés sur le 10 support solide de la "biopuce" comportent de 10 à 30 bases par exemple 20 bases, avec une position d'interrogation située dans la région centrale comme par exemple en 12ème position par rapport à l'extrémité 3' de la séquence pour des oligonucléotides de 20 bases. Un autre exemple consiste à utiliser des oligonucléotides de 17 bases, avec 2 positions d'interrogations : une en 10ème 15 et une en 8ème position. D'autres oligonucléotides ont des longueurs comprises entre 10 et 25 nucléotides. Les positions d'interrogation varient alors en fonction de la longueur de l'oligonucléotide:

L'analyse est effectuée sur le système complet GeneChip® (référence 900228, Affymetrix, Santa Clara, CA) qui comprend le lecteur GeneArray®, le 20 four d'hybridation GeneChip®, la station fluidique GeneChip® et le logiciel d'analyse GeneChip®.

Un oligonucléotide selon l'invention peut aussi être utilisé à titre de sonde de thérapie génique pour traiter les infections provoquées par une souche appartenant à une espèce du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres 25 apparentés, ladite sonde comprenant un oligonucléotide tel que défini précédemment. Cette sonde de thérapie génique, capable de s'hybrider sur l'ARN messager et/ou sur l'ADN génomique desdites bactéries, peut bloquer les phénomènes de traduction et/ou transcription et/ou de réplication.

Le principe des méthodes de thérapie génique est connu et repose 30 notamment sur l'utilisation d'une sonde correspondant à un brin anti-sens : la formation d'un hybride entre la sonde et le brin sens est capable de perturber au moins l'une des étapes du décryptage de l'information génétique. Les sondes de thérapie génique sont donc utilisables comme médicaments antibactériens,

permettant de lutter contre les infections causées par les bactéries des espèces du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés.

L'invention sera mieux comprise à l'aide de l'exposé ci-après, divisé en exemples, qui concernent des expériences effectuées dans le but de réaliser
5 l'invention et qui sont données à titre purement illustratif.

La figure 1 représente la visualisation des produits d'amplification par coloration au bromure d'éthidium après électrophorèse sur un gel d'agarose obtenu à l'exemple 3.

10 Exemple 1. Séquence du gène *rpoB* de trois espèces du genre *Streptococcus* et genre apparenté : *Abiotrophia defectiva*, *Streptococcus anginosus* et *Streptococcus equinus*.

La séquence complète du gène *rpoB* des bactéries des espèces *Abiotrophia defectiva*, *Streptococcus anginosus* et *Streptococcus equinus* a été
15 déterminée par amplification enzymatique et séquençage automatique disponible chez les Streptocoques. Le choix de ces espèces a été basé sur l'analyse de l'arbre 16S qui montre une divergence génétique couvrant l'ensemble de l'arbre phylogénétique des streptocoques.

Stratégie et Séquençage :

20 Plusieurs séquences partielles de 510 pb de gènes *rpo-B* sont disponibles sur GenBank pour les 10 espèces de streptocoques suivantes : *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus cristatus*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus anginosus* et
25 *Granulicatella adjacens*. [Majewski, J., Zawadzki, P., Pickerill, P., Cohan, F.M. and Dowson, C.G. Barriers to genetic exchange between bacterial species: *Streptococcus pneumoniae* transformation. J. Bacteriol. 182, 1016-1023 (2000)], mais les amorces utilisées par ces auteurs n'amplifient qu'une fraction des espèces du genre *Streptococcus* et il n'a donc pas été possible de mener à bien
30 notre travail sur la base de ces seules données. Il a donc fallu déterminer des amorces capables d'amplifier l'ensemble des souches de streptocoques, enterocoques, *Abiotrophia*, *Gemella*, et *Granulicatella*. Ces amorces devaient en outre encadrer une région présentant une diversité génétique suffisante pour

permettre de distinguer deux espèces entre elles. Cependant, l'alignement de ces séquences partielles publiées a permis de déterminer les amorces communes suivantes : (la numération se réfère à la séquence complète du *Streptococcus pyogenes*)

- 5 SEQ ID N° 36 : 5'- AGACGGACCTTCTATGGAAAA -3' (amorce 748F) ,
 - SEQ ID N° 37 : 5'- GGACACATACGACCATAGTG -3' (amorce 116R), et
 SIQ N° 38 : 5'- GTTGTAACCTTCCCAWGTCAT -3' (amorce 830R).

Ces amorces ont permis de séquencer la partie centrale du gène *rpoB* de 714pb pour les cinq espèces choisies (*Streptococcus equinus*, *Streptococcus*
 10 *mutans*, *Streptococcus anginosus*, *Enterococcus faecalis*, et *Abiotrophia defectiva* A partir de ce fragment central, le séquençage a été poursuivi par la technique dite du génome Walker.

En dehors de cette zone publiée [Majewski,J., et al. J. Bacteriol. 2002, 182, 1016-1023], l'alignement des deux séquences complètes disponibles dans
 15 GenBank (*Streptococcus pneumoniae* [GenBank numéro d'accès AE008542] et *Streptococcus pyogenes* [GenBank numéro d'accès AE006480) ont permis de choisir les amorces suivantes :

- SEQ ID N° 39 : 5'- GTCTTCWTGGGYGATTTCCC -3' (amorce 2215R),
 - SEQ ID N° 40 : 5'- ACCGTGGIGCWTGGTTRGAAT -3' (amorce 2057R),
 20 - SEQ ID N° 41 : 5'- AACCAATTCCGYATYGGTYT -3'(amorce 1252R),
 - SEQ ID N° 42 : 5'- AGIGGGTTTAACATGATGTC -3'(amorce 371F),
 - SEQ ID N° 43 : 5'- AGIGCCCAAACCTCCATCTC -3'(amorce 730F), et
 - SEQ ID N° 44 : 5'- CTCCAAGTGAACAGATGTGTA -3'(amorce 585R).

Ces amorces ont permis d'étendre la région séquencée pour certaines des cinq
 25 souches choisies. De façon tout à fait inattendue, *E. faecalis* n'est pas amplifiée par ces amorces ; mais on a observé que la zone partielle séquencée présentait une homologie avec le gène *rpoB* de *Listeria monocytogenes*, c'est à dire avec une bactérie appartenant à un genre bactérien différent ce qui ne pouvait absolument pas être déduit des données existantes, on a donc choisi des
 30 amorces dans le gène *rpoB* de *Listeria* pour amplifier le gène *rpoB* de *Enterococcus faecalis*.

- SEQ ID N°45 : 5'- TTACCAAACCTTAATTGAGATTCAAAC- 3' (amorce 180F)
 - SEQ ID N°46 : 5'- AGTATTTATGGGTGATTTCCTCA- 3' (amorce 410F)

- SEQ ID N°47 : 5'- GGACGTTATAAAATCAACAAAAAATT- 3' (amorce 910F)
- SEQ ID N°48 : 5'- AGTTATAACCATCCCAAGTCATG- 3' (amorce 2430R)
- SEQ ID N°49 : 5'- TGAAGTTTATCATCAACCATGTG- 3' (amorce 3280R)
- SEQ ID N°50 : 5'- CCCAAAACGTTGTCCACC- 3' (amorce 3360R)

5 Les séquences partielles ainsi obtenues pour les cinq souches choisies (*Streptococcus equinus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus anginosus*, *Enterococcus faecalis*, *Abiotrophia defectiva*) ont permis de choisir les amorces suivantes :

- SEQ ID N°51 : 5'- AACCAAGCYCGGTTAGGRAT -3' (amorce 520R)
 - 10 - SEQ ID N°52 : 5'- ATGTTGAACCCACTIGGGGTGCCAT -3' (amorce 2881F)
- pour le séquençage des zones C- et N- terminales par Génome Walker.

Le séquençage est alors complet, comme en témoignent la détermination de la région codante, et l'alignement des protéines traduites des séquences nucléotidiques avec les deux protéines RpoB publiées de *Streptococcus*
15 *pneumoniae* et *Streptococcus pyogenes*.

Plusieurs amorces consensus potentielles ont fait l'objet d'investigations pour obtenir un fragment susceptible de conduire à la séquence complète des gènes *rpoB* par élongations successives à partir d'une série d'amorces spécifiques.

20 Dans chacune des étapes ci-dessus, un grand nombre de tentatives avec des amorces théoriquement ou potentiellement appropriées ont échoué avant de déterminer les amorces mentionnées ci-dessus pour permettre d'amplifier et de séquencer par étapes successives la totalité des gènes *rpoB* décrite ci-après.

Les réactions de séquençage ont été réalisées en utilisant les réactifs du
25 kit ABI Prism dRhodamine Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Perkin Elmer Applied Biosystems) selon les recommandations du fournisseur suivant le programme suivant : 30 cycles comprenant une étape de dénaturation à 94°C pendant 10 sec., une étape d'hybridation de l'amorce à 50°C pendant 10 sec. et une étape d'extension à 60°C pendant 2 minutes. Les produits de
30 séquençage ont été séparés par électrophorèse sur un gel de polyacrylamide sur un séquenceur 377 DNA Sequencer (Perkin) et analysés pour former des séquences consensus par le logiciel Sequence Assembler (Applied Biosystems).

Cette approche nous a permis de déterminer la séquence complète du gène *rpoB* chez deux espèces du genre *Streptococcus* et chez *Abiotrophia defectiva* :

SEQ.ID. n°1 : Séquence du gène *rpoB* de *Streptococcus anginosus*. Cette

- 5 séquence mesure 4 523 paires de bases , possède un contenu en cytosine plus guanosine de 41 % et est déposée dans GenBank sous le numéro d'accension AF 535183 :

```

5'-TCATACTTTTAGAGTCAGATTTAGCTGCTCTTTTTGTGCCTGTTTTGGGATTTTTGTGCTTTGT
CATCAAAATTAAGATTCTGAAAATTACTCAAAAAGGATAAAATGAAAATTGCTACTCTATTCCA
10 TTAATAGAGAAATGTAGAAAAGAAGAAGGAGTAAAAAATTGGCAGGACATGAAGTTCAATACGGG
AAACACCGTACTCGTCGTAGTTTTTCAAGAATCAAGGAAGTCTTTGATTTACCAAATTTGATTG
AAATCCAGAGGATTCGTTCAAAGATTTCTTGACCATGGTTTGAAAAGAAGTATTTGAAGATGTA
CTTCCCTATCTCAAACTTTACAGATACAATGGAGCTAGAGTTTGTGTGGTTATGAAATTAAAGGAT
CTAAATACACTTTAGAAGAAGCACGTATCCATGATGCCAGCTATTCTGCACCTATTTTTGTGAC
15 TTTCCGTTTGATTAATAAAGAACTGGTGAAATCAAAACCAAGAAGTGTCTTTGGCGATTTTC
CCAATCATGACAGAAATGGGAACTTTCATTATCAATGGTGGTGAGCGGATTATCGTATCTCAGC
TCGTTTCGTTCTCCAGGTGTTTACTTCAACGATAAAGTAGACAAAAATGGTAAAGTTGGTTATGG
TTCAACTGTTCATTCCTAACCGTGGAGCTTGGTTAGAGCTGGAAACAGACTCAAAAGATATTGCT
TATACTCGGATTGACCGTACTCGTAAGATTCCGTTTACGACACTTGTTCGTGCGCTTGGTTTTT
20 CTGGCGATGATGAAATCTTTGACATTTTCGGCGACAGCGATCTCGTTTCGCAACACGATTGAAA
GGATATTCATAAAATCCAATGGATTACGTCACGATGAAGCGCTTAAAGAAATCTATGAACGT
CTTCGTCCAGGTGAGCCTAAACAGCTGATAGTTACGCTAGTCTATTGGTCGCTCGTTTCTTTG
ATCCACATCGTTACGACTTGGCGGCAGTTGGTCTTATAAAATCAATAAAAAAATTAAACATTAA
AACACGTTTGTAAATCAAACGATTGCAGAGCCTTTGGTAGATCCAGAAACAGGTGAAATCTTG
25 TTTGAAGCTGGAACGGTTATGACGCGTAGTGTCAATTGATAGCATTGCAGAATACTTGGACGGTG
ATTTGAATAAAATCACTTATATTCCAAATGATGCAGCTGTGTTAACAGAGCCAGTTGTTCTTCA
AAAATTCAAAGTGGTGGCGCCAACCTGATCCAGATCGTGTGGTGAATATTATTGGTAATGCCAAC
CCAGGAGATCGAGTTTCATACGATTACGCCAGCAGATATTTTGGCTGAGATGAATTACTTCTTGA
ACCTCGCTGAAGGACTTGGTCTGTGTGGACGATATTGACCACCTTGGGAAATCGTCGGATTTCGTGC
30 CGTTGGTGAATTGCTTGCTAACCAAGTACGTCCTTGGCTTGTCTCGTATGGAGCGAAACGTCGG
GACGCGATGAGTGTGCAAGATAATGAAGTGTGACACCGCAACAAATCATTAAACATCCGCCAG
TCACAGCAGCTATCAAAGAATTTCTTGGTTCACTCAATTGTCTCAATTTATGGACCAACATAA
TCCACTGTCTGAATTGTCTCACAACGCCGTTTGTGACCTTGGGACCTGGTGGTTTGACTCGT
GATCGTGCTGGATATGAAGTGCCTGACGTGCCTATACCCACTATGGTCGTATGTGTCCGATTG
35 AAACGCCTGAAGGACCAACATCGGTTTGATCAATAACTTGTCTTCTTATGGACACTTGAATAA
ATATGGCTTTATCCAAACGCCGTATCGTAAAGTGGATCGTGAAACAGGTCTGGTCACCAATGAA
ATCGTTTGGCTGACAGCGGACGAAGAAGATGAATTTATCGTAGCGCAAGCAAATTTCAAATTAA
CAGAAGATGGTCTGTTTTGCAGAAGCGATTGTTCATGGGACGTCACCAAGGGAACAACCAAGAATT
TCCTTCAGATCAAGTAGACTTCATGGATGTATCGCCTAAGCAGGTAGTTGCGGTTGCGACAGCA
40 TGTATTTCCTTTCTTGAACGACGACTCAAAACCGTGCTCTCATGGGTGCCAACATGCAACGTC
AGGCGGTACCGTTGATTGATCCGCATGCACCATATGTTGGTACTGGTATGGAATACCAAGCAGC
TCATGACTCTGGTGCGGCGATTATTGCCCAACACGACGGTAAAGTTGTATATTCTGATGCAGCC
AAAGTTGAAGTTTCGTGCTGAAGATGGCTCACTTGATGTCTATCATATTACGAAATTCGCCGTT
CAAACCTCTGGTACTTCTTACAACCAACGTACGCTGGTAAAAGTTGGCGATACAGTTGAAAAAGG
45 TGACTTTATCGCAGACGGACCTTCTATGAAAAAGGTGAAATGGCACTTGGACAAAATCCAATC
GTTGCTTATATGACATGGGAAGGTTACAACCTTTGAAGATGCCGTTATCATGAGTGAGCGTTTAG
TGAAAGACGATGTTTACACATCTGTTCACTTGGAGGAATTTGAATCAGAAACACGTGATACAAA STRF
GCTTGGACCTGAAGAAATCACGCGGAAATTCAAACGTCGGTGAAGATGCTTTGAGAGACCTT
GACGAAACGGGAATTATCCGCATTGGTGTCTGAGGTAAAAGAAGGCGACATTCTTGTCCGTTAAAG
50 TAACACCGAAAGGTGAAAAAGACTTATCTGCTGAAGAACGCCTGCTTCATGCAATTTTCCGTTGA
TAAATCTCGTGAAGTACGTGATACTTCCCTTCGTGTACCACATGGTGGTGCAGGGGTTGTCCGT
GATGTGAAAATCTTTACTCGTGCGAACGGTGATGAATTGCAATCTGGTGTCAACATGTTGGTAC
GTGTTTACATCGCTCAAAACGGGAAATCCGTGTTGGGGATAAGATGGCTGGACGTCACGGAAA
CAAAGGGGTTGTTTTCCCGCATTTGTTCCAGTTGAGGATATGCCGTATCTTCCAGATGGAACACCA

```

GTTGATATTATGTTGAACCCACTTGGGGTGCCATCTCGTATGAATATTGGTCAAGTTATGGAGC
 TTCACCTCGGTATGGCTGCTCGCAACCTTGGCATTCAATTGCAACACCAGTATTTGACGGGGC
 TAGCTCAGATGATCTTTGGGAAACCGTTTCGTGAAGCTGGCATGGATAGCGATGCTAAGACAATC
 CTTTATGATGGCCGTACTGGTGAGCCATTTGATAATCGTGTATCCGTTGGTGTCATGTACATGA
 5 TCAAACCCACCATATGGTTGATGATAAGCTCCATGCCCGTTCCGTTGGTCCCTATTCAACCGT STRR
 TACGCAACAACCTCTTGGTGGTAAAGCGCAGTTTGGTGGACAACGTTTTGGAGAAATGGAAGTT
 TGGGCTCTTGAAGCCTACGGTGCTTCTAACGTCCTTCAAGAAATCTTGACTTACAAGTCAGATG
 ACATCAATGGTCGTTTGAGAGCTTATGAAGCCATTACCAAAGGTAAGCCAATTCAAAACCAGG
 TGTTCAGAAATCCTTCCGTGTCTTGTAAAAGAATTGCAATCACTTGGTCTTGACATGCGTGTC
 10 CTTGATGAAGACGACAATGAAGTCGAACCTTCGTGACTTGGACGAAGGCATGGATGATGATGTGA
 TTCATGTAGACGATCTTGAAAAAGCACGTAAGCAGCACAAGAAAGCAAAAGCCGCTTTTGA
 TGCTGAAGGGAAAGAATAAGAACTGATTCAATAGATAATAAAGAAAGGTAAGAAATAGTGGTTG
 ATGTAAATCGTTTCAAAGTATGCAATCACCTTAGCTTCTCCTAGTAAAGTCCGCTCTTGGTC
 TTATGGAGAAGTGAAGAAACCTGAAACAATTAACCTACCGCACACTAAAACCAGAACCGGAAGGG
 15 CTTTTTGATGAAGTCATCTTTGGTCCCTACGAAAGACTGGGAATGTGCGTGTGGAAAATATAAAC
 GGATTCGTTATAAAGGAATCATTTGTGACCGTTGTGGTGTGTAAGTAACTCGTACTAAAGTTTCG
 TCGTGAACGTATGGGACATATTGAGTTGAAAGCCCCAGTCTCCTCATATTTGGTATTTTAAAGG
 AATTCCAANTCGCATGGGCTTGACCTTGGACATGAGCCCTCGTGCTCTTGAAGAAGTCATNTAN
 TTTGCAGCTTATGTGGTGANTGACCCTAAAGATACNCCACTTGAGCACAAATCCATTATGACAG
 20 AGCGGGATGGTTNGTGAACGCTGACNTGAATATGGCCAAGGCTCTTTTGTGCAAAAATGGGTG
 YTGAAGCAATCCAAGATCTNNTGAAACANGTAGACCTGGAAAAGAAATGTCAGAGCTCAAAGA
 TGAATTA AAAACCGCAAGTGGGCAAAAGCGCGTAAAMGCTAANTTCGTCGNTNNGACTCTTTTC
 GATNCTTTCCAAAAATCATGGTACACAAAACCAGAACTGGATGGTCTTAAACCATCNTNTCACC
 GCTCATTCAGACAC -3'
 25

SEQ ID N°2 : Séquence du gène *rpoB* de *Streptococcus equinus*. Cette
 séquence mesure 4 118 paires de bases et possède un contenu en cytosine
 plus guanosine de 41 % est déposée dans GenBank sous le numéro GenBank
 accession AF 535187:

30 5' -CACGCGTGGTCGACGGCCCGGGCTGGTGAATTGTCATAAGTTGTGTAGTAGTAAATTCCTTTAT
 CAGTGTGATGCATGAGCTATAAATAGTGACTCATATTTGCCACTTTCATCGACATAGCAAAG
 TCCTTTTGTGTTCAACGGATTTTAAATGTGGAAGAATTGATTAACTGCTTCTTCTGTT
 TCTTCAGCCACAGAATTTAATTTGTAAAAGTAACTTTTACATAACGTGACATTGATGATAAAT
 35 CACCAGGCAAGCCAAGTCCACCCATGCCACGGCTATAAGTTTCAAGTTCTAACTCTTTAGCAAA
 ACGATTTTCTGAAACCTTTGGAGATAGATGACGATAGTTATTCAAATTGAATAATTGTTTATCA
 AAAGTTGGATTATTAGTCAAAACACCTGTTGAGTTATTTCGTAAACTTATAGGGCACGCGTGGTC
 GACGGCCCGGGCTGGTAAAGACTTCTTGATAACGGATTAAAMAGAAGTTTTTGAAGATGTAATT
 CCGATTACAAACTTTACGGATACTATGGAGCTTGAATTTGTGTGGTTACGAATTGAAAGAGCCTA
 40 AGTATACGCTTGAAGAAGCTCGTATCCACGATGCATCTTATTACGACACCTATTTTGTAACTTT
 CCGTTTGATTAATAAAGAAACAGGAGAAATCAAACTCAAGAAGTTTTCTTCGGTGAATTTCCCA
 ATTATGACTGAAATGGGTACATTCATCATCAACGGTGGTGAACGTATTATCGTTTCTCAGTTGG
 TTCGTTCTCCTGGTGTATTATTTCAACGATAAAGTTGATAAAAACGGTAAAGTTGGTTACGGTTC
 AACTGTAATCCCTAACCGTGGAGCATGGCTTGAATTAGAAACAGATTCAAAAGATATTGCTTAC
 45 ACACGTATCGACCGTACACGTAAAATTCATTTACAACCTCTGTACGTGCGCTTGGTTTCTCAG
 GTGATGATGAAATCATGGATATCTTTGGTGATAGCGAACTTGTTCGTAAACACAATCGAAAAAGA
 TATTACAAAAACCCAGCAGACTCACGTACTGACGAAGCTCTTAAAGAAATTTACGAACGCCTT
 CGTCCAGGTGAACCAAAAACAGCTGATAGCTCACGTAGCTTGCCTGTAGCTCGTTCTTTGACC
 CACGTCGTTATGACTTGGCAGCTGTTGGTCTTTACAAAATCAACAAAAAATTAACATCAAGAC
 TCGTCTTTTGAACCAAAACAATCGCTGAAAACCTGGTTGATGCTGAAACTGGTGAAATCCTTGT
 50 GAAGCTGGTACAGTAATGACACGTGACGTGATTGATTCAATCGCTGATCAATTGGATGGTGACC
 TTAACAAATTTGTTTACACACCAAAATGATTACGCTGTTGTCACTGAACCTGTTGTTCTTCAAAA
 ATTCAAAGTTGTTGCACCAAAACGATCCAGACCGCGTTGTTACAATCGTTGGTAACGCAAAATCCT
 GATGACAAAGCGCGTGCCTTACACCAGCTGATATCTTGGCAGAAATGCTTACTTCTTAAACC
 TGTCTGAAGGTCTAGGTAAAGTTGATGATATCGACCACCTTGGGAATCGTCGTATTTCGTCCGT
 55 TGGTGAATTTGCTTAACCAATTCGCTATTGGTCTTGTCTCGTATGGAACGTAACGTTCCGGGA
 CGTATGTCAGTTCAAGACAACGAAGTGTGACACCACAACAAATCATCAACATTTCGTCCTGTTA

CTGCAGCCGTTAAAGAATTCCTTCGGTTCATCTCAATTGTCACAGTTCATGGACCAACACAACCC
 ACTTTCGAGTTGTCCTCACAACCGTCGTTTGTTCAGCCTTAGGACCTGGTGGTTTGAAGTTCGTGAC
 CGTGTGCTGTTATGAAGTTCGTGACGTGCACCTACCTCACTATGGTTCGTATGTGTCCGATTGAAA
 CTCCTGAAGGACCTAACATCGGTTTGATCAATAACTTGTCAACATACGGACACCTTAATAAATA
 5 TGGTTTCATCCAAAACCATATCGTAAAGTTGACCGCGCTACAGGTGTGATTACAAAACGAAATC
 GTTTGGTTGACTGCCGATGAAGAAGATGAATACACAGTAGCACAGGCTAACTCAAAACGTTAAG
 AAGATGGAACATTTGCTGAAGACATCGTTATGGGACGTCACCAAGGTAATAACCAAGAGTTCCC
 AGCAAGCGTTGTTGACTTCGTAGACGTTTCACCTAAACAAGTAGTTGCCGTTGCGACAGCATGT
 ATTCCTTTCTTGAACGATGACTCTAACCGTGCCCTTATGGGTGCCAACATGCAACGTCGTAAG
 10 CGGTGCCATTGATTCACACGACCATATGTTGGTACTGGTATGGAATATCAAGCAGCCCA
 CGACTCAGGTGCTGCAGTTATCGCTAAACACGATGGACGCGTTATCTTCTCTGATGCTGAAAAA
 GTTGAAGTTCGTGCGAAGATGGTTCACTTGATGTTTACCACATTACTAAATTCCGTCGTTCTA
 ACTCAGGTACAGCTTATAACCAACATACACTTGTAAAGTTGGCGATATCGTTGAAAAAGGTGA
 CTTTCATCGCTGATGGTCCCTCAATGGAAAAAGGTGAAATGGCCCTTGGTCAAAACCCATCGTC
 15 GCTTACATGACTTGGGATGGTTATAACTATGAAGATGCCATCATCTTGAGTGAACGCTCTTGTTA
 AAGAAGATGTTTATACATCAGTTCACTTGAAGAATTTGAATCAGAAACACGTGATACTAAGTT
 AGGCCCTGAAGAAATCACTCGCGAAATTCCAAACGTTGGTGAAGAAGCTCTTAAAGACCTTGAC
 GAAATGGGTATTATCCGTATCGGTGCTGAAGTTAAAGAAGGTGACATCCCTTGTTAGGTAAAGTAA
 CACCTAAAGGTGAAAAAGACCTTTCTGCTGAAGAGCGCCTTCTTCACGCAATCTTCGGTGAATAA
 20 ATCAGGTGAAGTTCGTGATACATCACTTCGTGTACCACACGGTGGAGATGGTGTGCTTCGTGAC
 GTTAAATCTTTACACGTGCAAAACGGTGATGAATTACAATCAGGTGTTAACATGCTCGTTTCGTG
 TTTATATCGCACAAAAACGTAATAAAGTCGGAGATAAAATGGCCGCTCGTCACGGTAACAA
 AGGGGTGTTTCTCGTGTGTTCCAGTTGAAGACATGCCCTTATCTTCAGACGGAACTCCAGTC
 GATATCATGTTGAACCCACTTGGGGTGCCATCTCGTATGAACATCGGACAAGTTATGGAGCTTC
 25 ACCTTGGTATGGTGTGCTCGTAACCTTGGTATTCACATTCGAACACCAGTCTTTGATGGGGCAAC
 TTCTGAAGACCTTTGGGATACAGTTAACGAAGCTGGTATGGCTAGCGACGCTAAGACAGTTCTT
 TACGATGGACGTACTGGTGAACCATTTGATAACCGTGTGTGAGTTGGTGTGATGTACATGATTA
 AACTTCACACATGGTTGATGATAAACTTCACGCAGTTTCAGTTGGTTCCTTACTCACTTGTTAC
 30 GCAACAACTCTTGGTGGTAAAGCACAATTTGGTGGACAACGTTTCGGTGAATGGAAGTTTGG
 GCTTTGGAAGCTTACGGTGCATCAATGTTCTTCAAGAAATCTTGACTTACAAATCAGATGATG
 TCAACGGTTCGTCTTAAAGCTTATGAAGCCATCACTAAAGGTAAACCAATTCCAAACAGGTGT
 TCCAGAATCATTCGGAGTTCTTGTAAAGAAATGCAATCACTTGGTCTTGACATGCGCGTGCTT
 GATGAAGATGACAATGAAGTAGAATTCGTGATCTTGATGAAGGTGAAGATGACGATGTTATGC
 ACGTTGATGATCTTGAAAAAGCTCGTCAAAAACAAGAAGCAGAAGAAGCGGAAAAAGCAGAAGT
 35 TTCTGCAGAAGAAAAACAATAATAGGAAAGAACATTTCAGACATGAGAGAGGCAAGACCTGCTTC
 TCTTGGTCAGATTGTTTGGATTGAGTCTTATAACGATAAATGATGTCTTACGAATCATGAATTTG
 TAAGTCATGACAGTTAGAAAGTAGCGCAGCTATTTCAAAGTCATAAGAAGGTATCATGGTGACG
 TAATCGTTACAGCCGGCGTC -3'

40 SEQ ID N°3 : Séquence du gène *rhoB* d'*Abiotrophia defectiva*. Cette séquence
 mesure 4 325 paires de bases, possède un contenu en cytosine plus guanosine
 de 47 %, et est déposée dans GenBank sous le numéro AF 535173 :

5' -ATATAGGGGCACGCGTGGTTCGACGGCCCGGGCTGGTCCATAACAACATGTAACGTCACTCCGATG
 AGTTGGTTCTGTTGTCTTTTTCGCGCTTCAAAGACCGAAAAATGTCATTTGTCAACAATTAT
 45 TAATAATGTAACTTAATGTAAAGTGGTGTCTTAGATTATATTATAGGGGTGAATCGCTTGA
 GTCATATCGTGAAATACGGTAAAAAGCTGAGCGTCGAAGCTATGCGCGTATCGACGAAGTCTT
 AGAGTTGCCGAACCTTGATTGAAATCAAACGGATTCTTACAAATGGTTCTTGGATGAAGGGCTA
 AAAGTGATGTTTCGAGGACATTTTCGCCGATTGTCGACCATTCGGAGAAGCTTGGAACTTCATTTTG
 TAGACTATGAGTTCAAGGAAGCTAAGTATAGCTTAGAAGAAGCTCGTAGCCATGACGCTAACTA
 50 CTCAAAACCAATCTATGTAACCTTGCGCCTGTTCAACAAAGAGACAGGTGAAGTCAAAGAACAA
 GAAGTCTTCTTCGGGGACTTCCCAATCATGACCGAAATGGGGACCTTCATTATCAACGGGGCGG
 AACGGGTATCGTTTCCAGTTGGTACGTTCTCCAGGTGCTACTTCCACGACCGTATGGACAA
 GAAAGGCCGCCACAGCTATACTTCTACGGTTATTCTTAACCGTGGGGCTTGGTTGGAATTTGAA
 TCAGATGCTAAGGGGATTGCCACGTCGACGATTGACCGGACCGGAAGATTCCATTGACTGTCT
 55 TGATGCGTGCCTTAGGTTTTGGTTTCAGATGACGAGATTATGATATCTTCGGCCAATCTGAGCT
 CTTAGACTTAACTATCGAGAAGGATGTTCAAAAAACATTCAAGACTCTCGTACGGAAGAAGCC
 TTGAAGGACATTTACGAGCGTCTCCGTCCAGGTGAACCTAAGACCGCAGAAAGCTCACGTAACC

TCTTGGTTGCGCGCTTCTTCGACCCACGTCGCTATGACTTAGCACCTGTAGGTCGTTATAAGAT
 CAATAAAAAGCTCCACCTCAAGAACCGTTTGGTTGGCTTGACTTTGGCTGAAACCTTGGTTAAC
 CCAGAAACAGGCGAAGTGCTCTTTGAAGAAGGAACGGTCTTGGATCAAGAACGTGTTCAAGCCC
 TGATTCCATACTTAGAGGCTGGCTTGAATAAGGTAACCTCTATCCTTCTGAAGATAGTGTGGT
 5 AGCTCAACCAATTGATTTACAAATCATCAAAGTTTATTACCTAAGAACGCCGAGCAAGTGATT
 AACATCATCGGTAACGGGAACATTGAGAAGATTAAAGTGCTTGACGCCAGCTGACATTATGCGT
 CAATGAACACTATCTCTATTTAGACCAAGGAATTGGTGTGACAGATGATATCGACCACTTGGC
 TAACCGTCGTATTCTGTTAGTCGGTGAATTATTGCAAAACCAATTCGGTATCGGGCTATCCCGG
 ATGGAACGGGTAGTGCCTGAACGTATGTGCTCCAAGATGTTGCGACCATCACACCGCAACAAT
 10 TGATTAACATTTCGTCCAGTAGTGGCGGCTATTAAGGAATTCTTCGGTTTCATCCCAGTTGTACA
 ATTCATGGACCAAGTTAACCCACTCGGGGAAATTGACCCACAAACGTCGTCGTCAGCCTTAGGG
 CCTGGTGGTTTGACGCGGGACCGTGCCGGCTATGAAGTGCGGGACGTTCACTACTCTCACTACG
 GCCGTATGTGTCCAATCGAGACGCCAGAAGGTCCTAACATCGGGTTGATTAACAGCTTGTCTTC
 TTATGCCAAGATTAACAAGTATGGTTTTATTGAGACGCCCTTACCGTAAAGTGACAAATCGGTT
 15 ACGCCACACCGTGTACGACCGAAATTGACTACCTAGCAGCGGACGAGGAAGACTTGTACGTAG
 TAGCCCAAGCCAACCTCTAACTCAACGAAGACGGGACCTTCGCCAATGACCTAGTTATGGCGCG
 TTTCCGTTTCAAAAACATTGAGGTTAACGTTGACCAAGTAGACTACATGGACGTATCGCCAAAA
 CAGGTTGTGCTGCTGTCGCGACTGCTAGCATTCCGTTCTTGGAAAACGACGACTCCAACCGGGCT
 TGATGGGTGCCAACATGCAACGTCAAGCTGTGCCACTTATTAAATCCACAATCCCCACTGATTGG
 20 GACTGGGATGGAATATAAGGCAGCACACGACTCTGGGGCTGCGCTCTTATGTAAGCGCGCCGGT
 GAAGTGGTTTTATGTCGATGCTAACAAAGGTGCGCGTGCACACTCCAGAAGGTGAAGTTGACGAAT
 ACCGTTTAACCAAGTTTGACGTTCTAACGCTGGGACCTGTTACAACCAACGTCCAATCGTAGA
 ATTAGGCGACCAAGTTGATGCCTTGGAATCTTAGCAGATGGTCCATCTATGCAAAATGGGGAG
 ATGGCCCTCGGTCAAAAACCCACTGGTAGCCTTCATGACTTGGGAAGGGTATAACTATGAGGACG
 25 CGGTTATCATGTCTGAACGCTCTGGTCAAAGACGATGTTTTATACCTCTATCCACATTGAAGAATA
 TGAATCAGAGTCCCGTGAYACYAAGTTAGGCCCTGAAGAAATTACACGCGAAATTCCAAACGTG STRF
 TCCGAAGATGCCCTCAAGTACTTAGACAAAGACGGGATTATCTGTATCGGGGCGGAAGTAAAAG
 ACGGCGATATCTTAGTTGGTAAGGTAACACCAAAAGGTGTGACCGAGTTGTCTGCGGAAGAACG
 CTTCGTCATGCTATCTTCGGTGAGAAGGCGCGTGAAGTACGTGATACTTCTTCGCTGTGCCA
 30 CACGGCGGGGGCGGATTTGTCCACGACGTTAAATCTTTACCGCGAAGCTGGCGACGAATTGG
 CACCAGGTGTCAACAAGCTAGTCCGCGTCTACATCGTACAAAAACGTAAAAATCAATGAAGGGGA
 TAAGATGGCCGGTCGTCACGGTAACAAAGGGGTGTCTCCCTTATCATGCCGGAAGAAGATATG
 CCATTCTTACCAGATGGTACCCAGTTGATATCATGTTGAACCCATTAGGGGTTCCATCCCGTA
 TGAACATCGGGCAAGTCCTAGAGTTACACTTGGGGATGGCTGCTCGCGAAATGGGCATCAAGAT
 35 TGCAACACCTGTCTTTGACGGTGCTAGTGAAGAAGATGTCTGGGAAACAGTTAAGGAAGCCGGC
 TTAGAAGCTGACGCTAAGACTATCTTATGATGGTTCGAACCGGTGAACCATTTGACCGTAAAG
 TCTCTGTTGGGGTTATGTACATGATTAAGTTGGCCACATGGTTCGATGACAAGTTGCACGCCCG STRR
 TTCAACAGGTCCATACTCTCTGGTTACCAACAACCATTTGGGTGGTAAAGCTCAATTTGGTGGG
 CAACGTTTCGGGGAGATGGAGGTTTGGGCCCTA -3'

40

SEQ ID N°4 : Séquence partielle du gène *ropB* de *Streptococcus mutans*. Cette
 séquence mesure 3198 paires de bases, elle possède un contenu en cytosine
 plus guanosine de 42 %, et est déposée dans GenBank sous le numéro AF
 535167.

45 5' -GGACCCCTTTTATGACTTCTTGGATACAGGCTCTGAAGGAAGTTTTTGAAGATGTGCTTCCAATTT
 CCAATTTACAGACACTATGGAATTAGAGTTTGTGGGTTATGAGTTGAAAGAGCCTAAGTATAC
 ATTGGAAGAAGCAGTGCTCATGATGCACATTATCTGCCCCATCTTTGTTACTTTCCGTCTC
 ATCAATAAAGAACTGGTGAAATTAAGACACAAGAAGTATTTTTTGGTGATTTTCCCTTGATGA
 CTGAAATGGGTACTTTTATTATTAATGGTGCTGAACGTATTATCGTTTCTCAGTTGGTACGTTT
 50 ACCAGGTGTTTATTTTAAATGATAAAGTGGATAAAAAATGGGAAAATTTGGCTATGGTTCACTGTT
 ATCCCTAAGCTGACGCTGCTTGGCTTGAGCTTGAAACGGAACCTTAAGGATATTGCTTATACCTGTA
 TTGATCGTACTCGTAAAATTCCTTTTACGACGCTGGTTTCGTGCACTCGGTTTTTCCGGGGATGA
 TGAGATTATTGATATTTTTTGGTGATAGCGAATTGGTTTCGTAATACCATTGAAAAAGATATCCAT
 AAAAAATCCTAATGACTCTCGTACAGATGAAGCTCTCAAGGAANTTATGAACGCTTTCGTCCGGG
 55 TGAACCTAAAACGGCAGATTTCNTACGCAGTCTTCTGATTGCACGTTTCTTTGATGCGCCCGT
 TATGATTAGCAGCTGTTGGCCGCTATAGATAATAAGAAGTTAAACGTCAAAACGGGCTCTTGAA

TCAAGTCATTGGCTGAAAANNAGTAGATCTGAAACAGGCGAAATCTTGTTGAAAGCTGGGACT
 GAAATGACACGCAGTGTAATTGATTGCGATTGACAGATTATCTTGATGGAGATCTCAATAAAATTG
 TTTATACGCCAAATGAATACGCTGTTTTGACAGAACCTGTTGTTCTTCAAAAATTCAAAGTTAT
 GGCTCCAAATGATCCAGACCGCACGGTTACTGTTATTGGTAATGCCAGTCCAAGATGACAAAGT
 5 ACGTCACTTGACACCAGCCGATACGTAATTAGCTGAAATGTCTTATTTCTTAACCTTGGCTGAGG
 GTNTAGGTAAGTTGATGATATTGACCAATTTAGGCAACCGACGTATTCGTGCTGTTGGTGAAAT
 GCTTGCTAATCAATTTTCGTATTGGTTTGGCACGTATGGAACGCAATGTTTCGTGAACGCATGTCC
 GTTCAAGATAATGAAGTCTTAACGCCACAACAGATTATTAACATTGCGCCCTGTAACAGCGGCAA
 TTAAAGAGTTTTTTTGGTTCTTCTCAATTGTACAGTTTCATGGACCAACACAATCCACTGTCTGA
 10 ATTGTCTCATAAACGCCGTTTGTGACGCTTTAGGTCTTGGTGGTTTAAACAGCGACCGTGTCTGGT
 TATGAAGTCCGTGATGTGCACTATACGCAATATGGTTCGTATGTGTCCAATTGAAACGCCGTAAG
 GACCAATATTGGATTGATTAATAACTTGTCTTCCATGGTCATCTTAATAAATATGGATTTAT
 CCAAAACACCATACCGTAAAGTTGACCGTGAGACAGGTAAAGTAACCAATGAAATCGAATGAGCTT
 ACTGCTGATGAAGAAGATGAATTCAGTGTAGCTCAGGCTAACTCAAACTCAATGAAGATGGAA STRF
 15 GCTTTGCTGAAGAAATCGTCATGGGACGTCATCAAGGGAATAACCAAGAGTTTCCAGCAAGTTC
 TGTGTAATATATGGATGTTTTCTCCTAAGCAGGTAGTTGCGGTAGCGACAGCATGTATTCCTTTTC
 CTTGAAAATGATGACTCCAACCGTGCCCTTATGGGAGCTAACATGCAGCGCCAAGCTGTGCCAT
 TGATTGATCCTAAAGCACCTTTTGTGGAAGTGGTATGGAATATCAAGCAGCCCATGATTCTGG
 AGCCGCTATTATCGCTCAACATAATGGGAAAGTGGTTTATTCCGATGCAGATAAGATTGAAGTT
 20 CGCCGTGAAGATGGCTCACTAGATGTTTATCATGTTACCAAATTCGTCGTTCTAACTCTGGAA
 CTGCCATACAATCAACGTACTCTTGTTAGGGTAGGCGATAGTGTGAGAAGGGGGACTTTATTGC
 AGATGGTCTCTTCTATGGAAGGGGTGAGATGGCTCTTGGACAAAATCCAGTGGTTGCTTACATG
 ACTTGGGAGGGTTACAACCTTTGAAGATGCTGTTATCATGAGCGAGCGTCTTGTCAAGGATGATG
 TTTTACTTCTGTCCATTTAGAAGAATTTGAATCTGAAACTCGTGATACAAAGCTTGGACCTGA
 25 AGAAATTACGCGTGAAATCCCAATGTTGGTGAAGATGCCCTGAAAGACCTTGATGAAATGGGA
 ATTATTCGCATTGGTGTGAGGTTAAAGAAGGTGATATTCTAGTTGGTAAAGTGACTCCTAAAG
 GAGAAAAGATCTTTCTGCAAGAAGACGCTCTTGCATGCCATTTTTGGTGACAAATCACGTGA
 AGTTTCGTGATACTTCTCTTCGTGTACCTCATGGTGGCGACGGTGTGTTTGTGATGTGAAAATC
 TTTACACGTGCTAATGGAGATGAACCTCAATCAGGTGTTAACATGCTGGTTCGTGTTTATATCG
 30 CTCAAAAACGTAAATCAAGGTCCGAGATAAGATGGCCGGAACGTATGGTAACAAGGGGTGTCGT
 TTCCCGTATTGTACCAAGTGGGAAGATATGCCATATCTTCCAGATGGAAACACCTGTTGATATCATG
 CTTAATCCACTTGGGGTGCCATCACGGATGAACATTGGGCAAGTTATGGAACCTCATCTTGGTA
 TGGCTGCTCGTAATTTGGGCATTATATGCAACGCCTGTCTTTGACGGAGCAACTTCTGATGA
 TCTTTGGGAAACAGTAAAGAAGCCGATGGAATCTGATGCTAAAACCTGTTCTTTATGATGGT
 35 CGCACAGGGGAGCCGTTTGATAATCGTGATCAGTTGGTGTATGTATATGATTAACTTCACC STRR
 ACATGGTTGATGAYAAACATTTTGTCTATGCAAGWTCAAGTTGGCCCTTAKTCAAYGAWTAMTC
 AGASGARTTCTGCTWGGTGTAAAGGCTNCAATTGTCTTTAGAGGTTAAGGCTGGTGAAATAAC
 GGTATGCTGGTATTGATGGCAATGGGCAAGTGAATANTCAACACCGGCCGCTACANCGTGC-3'

40 SEQ ID N°5 : Séquence partielle du gène *rpoB* d'*Enterococcus faecalis*. Cette
 séquence mesure 3096 paires de bases, elle possède un contenu en cytosine
 plus guanosine de 42 %, et est déposée dans GenBank sous le numéro AF
 535175

5' -GACCCTTATCAATTGGTTTTTAGATGAGGGACTTCGTGAAATGTTTGAAGACATTTTACCAATT
 45 GATGATTTTCCAAGGAAACTTATCCTTAGAATTTGTTGACTATGAATTAAGAAGAACCAAGGTACA
 CAGTAGAAGAAGCCCGCGCACATGATGCCAACTATTCTGCGCCATTACATGTAACATTACGTTT
 AACCAACCGTGAAACAGGTGAAATTAATCCCAAGAAGTCTTCTTCGGCGATTTCCCATTAATG
 ACAGAAATGGGTACCTTCATCATCAACGGGGCAGAACGTGTTATCGTTTCCCAATTAGTTTCGTT
 50 CTCCAGGTGTTTACTTCCATGGAAAAGTGGACAAAAACGGCAAAGAAGGTTTTTGGCTCAACAGT
 CATTCTTAACCGTGGTGCATGGTTAGAAATGGAAACAGATGCGAAAGACATTTCTTATGTTTCGG
 ATTTACCGCAGCAAGTAAATTTCCCTTAACTGTGTTAGTTTCGTGCTTTAGGTTTCGGTTCAGATG
 ATACCATCTTTCGAAATTTTCGGCGACAGCGAAAGCTTACGCAACACAATTGAAAAAGATTTACA
 CAAAAACGCAAGTGATTTCTGTACAGAAGAAGGCTTGAAGACATTTATGAACGCTTTCGCCCCA
 55 GGCGAACCAGCAAGCAGATAGCTCACGTAGCTTGTAACTTGCACGTTTCTTTTGATCCAAAA
 CGTTATGATTTGGCAAACGTTGGTTCGCTACAAAGTTAACAAAAATTAGACTTAAAAACACGTC
 TATTAACTTAACCTTAGCTGAAACGCTAGTTGATCCAGAACTGGTGTAAATCATTTGTCGAAA

AAGGCACAGTTTTTAACACACTACATCATGGAAACATTAAGGCRATACATTGACAAACGGCTTAA
 ACAGCGTAACCTTACATCCAAGTGAAGATGCGGTAGTAACCTGAACCAATGACGATCCAAGTGAT
 TCAAGTTCTTTTCACCAAAAGATCCTGAACGTATCGTAAATGTGATTGGTAACGGCTATCCAGAC
 5 GACAGCGTAAAAACAGTTCGTCCAGCAGATATCGTTGCTTCAATGAGCTACTTCTTCAACTTAA
 TGAAGATATCGGTAAATGTGATGACATCGACCACTTAGGTAATCGTTCGTATCCGTTTCAGTAGG
 CGAATTATTACAAAACCAATTCCGTATTGGTTTAGCCCGTATGGAACGTGTGGTTTCGTGAAAGA
 ATGTCTATTCAAGACACAGAAACATTGACACCACAACAATTAATTAACATCCGTCCAGTGGTAG
 CAAGTATCAAAGAATTCTTTGGTTCTTCACAGTTATCACAGTTTCATGGACCAACAAACCCATT
 AGGTGAGTTAACCCTATAACGTTCGTCTATCAGCCTTAGGGCCTGGTGGTTTGACTCGTGATCGT
 10 GCCGGTTATGAAGTTCGTGACGTTCACTACTCTCACTATGGTTCGTATGTGTCCAATTGAAACGC
 CTGAGGGACCAAAATATCGGGTTGATCAATAGCTTATCTAGTTATGCGAAAGTGAATAAATTTGG
 TTTTCATCGAAACGCCCTTATCGCCGTGTTGATCGTGCACAGGCCGTGTTACTGATCAAGTAGAT
 TACTTAACAGCAGACATCGAAGACCATTATATCGTAGCGCAAGCGAACTCACTTTTAAATGAAG
 ATGGCACATTTGCCAATGATGTTGTTATGGCGCGTCTACAAAGTGAAAACCTAGAAGTTGCCGT
 15 AGACAAAGTTGACTACATGGACGTTTCACCAAAACAAGTAGTCGCAGTCGCAACAGCATGTATT
 CCTTTCCTTAGAAAACGATGACTCCAACCGTGCCCTTGATGGGTGCCAACATGCAGCGTCAAGCGG
 TGCCGTTAATTCAACCACGCTCTCCGTGGGTAGGTACAGGTATGGAATATAAATCAGCCCATGA
 CTCAGGTGCTGCTTTACTATGTAAACATGACGGTGTCTGTTAGAAATTCGTTCGATGCAAAAGAAAT STRF
 CGCGTTTCGTTCGCGACAATGGCGCATTAGACAAATATATGGTTTACAAAATTCGGTTCGTTCTAACT
 20 CAGGAACAAGCTACAACCAACGCCCAATTGTTTCACTTAGGTGAAAAGTTGAAAAGGCGATACTT
 TACCGGATGGACCTTCTATGGAAGAAGCGAAATGGCTTTTATGGCAAACGTCTTAGTTGCCTTC
 ATGACATGGGAAGGTTACAACACGAGGATGCCATTATCATGAGCCGTTCGTTTAGTTAAAGACG
 ATGCTTACACTTCTGTGCATATTGAAGAATATGAATCAGAAGCACGTGATACAAAATTAGGACC
 TGAAGAAAATTACCCGTGAAATTCCAAACGTTGGGGAAGACGCGTTGAAAGACTTAGACGAAAT
 25 GGGATTATCCGCATTGGTGCTGAAGTTCAAGATGGCGACTTACTAGTTGGGAAAGTCACACCTA
 AAGGGGTCACAGAATTATCTGCAGAAGAACGTTTATTACACGCAATCTTCGGGGAAAAAGCCCG
 CGAAGTTTCGTGATACGTCTCTCCGTGTACCTCACGGTGGCGGCGGTATCGTTCATGATGTGAAA
 ATCTTTACTTCGTGAAGCTGGCGATGAATTATCACAGGTGTCAACATGTTAGTTTCGTGTCTATA
 TCGTTCAAAAACGTAAAATTACGAAGGAGATAAAATGGCGGGACGTACCGGAAATAAAGGGGT
 30 TGTTCCTCCGTATTATGCGCGGAAGAAGATATGCCATTCTTACCTGACGGAACACCTGTTGATATC
 ATGTTGAACCCATTAGGGGTACCTTCTCGTATGAATATCGGACAAGTACTTGAATTACACTTAG
 GTATGGCTGCTCGCCAATTAGGTATTCACGTCGCAACACCTGTTTTTCGATGGGGCAACCGATGA
 AGACGTTTGGGAAACTGTTTCGTGAAGCTGGTATGGCTAGCGATGCTAAAACAGTTCTTTACGAT
 GGACGTACAGGTGAACCATTTGATAACCGTATTTCCGTTGGTGTCATGTATATGATTAAATTAG
 35 CCCACATGGTTGATGACAAATTGCATGCTCGTTCAATCGGACCTTACTCTCTTGTACGCAACA STRR
 ACCGTTGGGTGTAAAGCTCAATTC-3'

Dans les séquences qui précèdent, le nucléotide K désigne T ou G, le
 nucléotide M désigne A ou C, le nucléotide R désigne A ou G, le nucléotide W
 40 désigne A ou T, le nucléotide Y désigne C ou T et le nucléotide N désigne A, T,
 C ou G.

Exemple 2 : Séquençage partiel du gène *rpoB* de 28 espèces du genre
Streptococcus et genres apparentés.

A partir de l'alignement des séquences complètes du gènes *rpoB* chez
 45 *Streptococcus* spp. et *Abiotrophia defectiva* de l'exemple 1 et celles connues
 dans GenBank, (*Streptococcus pneumonia* AE008542 et *Streptococcus*
pyogenes AE006480) un jeu d'amorces a été choisi pour l'amplification et le
 séquençage d'un fragment 709 à 740 pb de ce gène chez 28 souches type de
 ces genres bactériennes. Ces amorces ont pour séquence :

- SEQ ID N°6: 5'-AARYTIGMCCTGAAGAAAT-3'

- SEQ ID N°7: 5'-TGIARTTTRTCATCAACCATGTG-3'

La séquence SEQ ID n° 7 est utilisée à titre d'amorce 3' et représente donc la séquence inverse complémentaire du brin direct représenté dans les
5 séquences SEQ ID n° 1 à 5 qui précèdent.

Ces amorces sont incorporées avec l'ADN extrait des bactéries dans une PCR selon les conditions suivantes : dénaturation à 95°C pendant 1 min suivie de 35 cycles comportant une étape de dénaturation à 94°C pendant 10 sec, une étape d'hybridation à 52°C pendant 10 sec et une étape d'élongation à 72°C
10 pendant 30 sec.

Les produits amplifiés sont séquencés par les mêmes amorces SEQ ID N°6 et SEQ ID N°7 selon les conditions suivantes : dénaturation à 95°C pendant 1 min suivie de 30 cycles comportant une étape de dénaturation à 95°C pendant 30 sec, une étape d'hybridation à 52°C pendant 30 sec et une étape
15 d'hybridation à 62°C pendant 1 min. Les produits de séquençage sont analysés par un séquenceur ABI PRISM 3100.

Les inventeurs ont déterminé la position de ces deux amorces SEQ.ID. n° 6 et SEQ.ID. n° 7, de façon à respecter les critères suivants :

1- séquence encadrée par ces deux amorces spécifiques de l'espèce de la
20 bactérie. Cette condition est vérifiée après alignement des fragments de environ 720 pb avec l'ensemble des séquences des gènes bactériens *rpoB* disponibles dans les banques de données informatiques.

2- recherche d'une région d'identification la plus courte possible afin d'augmenter le plus possible la sensibilité de la détection moléculaire

25 3- la longueur des amorces de 18 à 22 pb,

4- séquence des amorces présentant une température de fusion voisine,

5- séquence des amorces ne permettant pas d'auto-hybridation ni de complémentarité.

Les fragments obtenus du gène *rpoB* des bactéries des espèces du genre
30 *Streptococcus* et desdits genres apparentés ont environ 720 (709 A 732) paires de bases et leur séquence est spécifique de chaque espèce de ce genre et permettant donc l'identification moléculaire des bactéries des 28 espèces testées sont :

SEQ.ID. n°8 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus suis* CIP
1032 17^T mesurant 709 paires de bases :

5' – CGCGAAATTCCAAACGTTGGTGAAGATGCCCTTCGCAACTTGGACGAAA
5 TGGGGATTATCCGTATTGGTGCCGAAGTTAAAGAGGGCGACATTCTTGTGG
TAAAGTCACACCAAAAGGTGAAAAAGATCTTTCTGCTGAAGAGCGTCTCTTGC
ACGCAATCTTCGGTGACAAGTCACGTGAAGTACGTGATACCTCTCTTCGTGTA
CCTCACGGTGCCGATGGTGTCTGTTTCGTGATGTGAAAATCTTTACTCGTGCCAA
CGGTGATGAATTGCAATCAGGTGTTAACATGTTGGTTCGTGTTTACATCGCTC
10 AAAAAACGTAAGATCAAGGTCGGAGATAAGATGGCCGGTCGTACGGTAACAA
GGGTGTCGTTTTACGTATTGTACCTGTTGAGGATATGCCATATCTTCCAGATG
GAACACCAGTTGACATCATGTTGAACCCACTCGGGGTGCCATCACGTATGAAC
ATCGGTCAGGTTATGGAACCTTCACTTGGGTATGGCGGCTCGCAACTTGGGCA
TCCATATCGCAACACCAGTTTTTCGATGGTGCAAGTTCAGAAGACCTCTGGTCA
15 ACTGTTAAAGAAGCAGGTATGGACTCAGATGCCAAGACCATTCTTTACGATGG
ACGTACAGGTGAACCATTTGACAACCGTGTATCTGTTGGTGTCATGTACATGA
TCAAGCTTCACCACATGGTTGATGACA – 3'

SEQ.ID.n°9 : séquence partielle du gène *rpoB* *Streptococcus sanguinis* CIP

20 55.128^T mesurant 725 paires de bases :
5'- TGTCATCAACCATGTGGTGAGCTTAATCATGTACATGACACCGACAGATA
CACGGTTGTCAAACGGCTCACCGGTACGTCCATCGTAAAGAATAGTCTTGGCA
TCGCTATCCATAACCAGCTTCACGGACAGTATCCCAGAGGTCTTCTGAGCTTGC
TCCATCAAAGACCGGTGTCGCAATATGGATGCCCAAGTTACGTGCTGCCATAC
25 CAAGGTGAAGCTCCATAACCTGACCAATGTTTCATACGTGATGGTACCCCGAGT
GGGTTCAGCATGATATCAACTGGTGTTCGGTCTGGCAAATAAGGCATGTCTTC
CACAGGAACGATACGGGATACAACCCCTTGTTCGGTGACGACCAGCCATCT
TATCTCCGACCTTGATCTTACGTTTTTGTAGCGATGTAGACACGAACCAACATAT
TAACGCCAGATTGCAACTCATCACCATTAGCACGGGTAAAGATCTTCACGTCA
30 CGAACCCTCCATCAGCACCGTGCGGCACACGCAGAGAGGTATCACGGACTTC
ACGAGACTTGTCTCCGAAGATAGCGTGCAAGAGGCGGTCTTCAGCAGAAAGA
TCTTTTTACCCCTTAGGGGTAACTTTACCTACAAGGATATCGCCTTCCTTGACT
TCCGCCCCGATGCGGATAATACCCATTTCTGTCCAAATTGCGTAGGGCATCTTC
CCCTACGTTTGGAATTCGCGGGTAATTCTTCAGGTCA – 3'

SEQ.ID. n°10 : séquence partielle du gène *rpoB* *Streptococcus salivarius* CIP 102503^T mesurant 728 paires de bases :

5'- TTGTCATCAACCATGTGTGAAGTTTGATCATGTACATGACACCAACTGAT
5 ACACGGTTATCAAATGGTTCACCTGTACGTCCATCGTAAAGGATTGTCTTAGC
ATCACTATCCATACCTGCTTCACGAACAGTATCCCAGAGGTCTTCTGAGCCTTGC
CCCGTCAAAGACTGGTGTGCGATGTGGATACCCAAGTTACGAGCAGCCATA
CCAAGGTGAAGTTCCATAACCTGACCGATGTTTCATACGTGATGGCACCCCAAG
AGGGTTCAACATGATATCAACTGGTGTACCGTCTGGAAGGTAAAGGCATGTCT
10 TCAACAGGAACAATACGAGAAACAACCCCTTTGTTACCGTGACGACCGGCCAT
CTTATCTCCGACCTTAATCTTACGTTTTTGAGCGATGTAAACACGAACAAGCAT
GTTAACACCTGATTGCAATTCATCACCGTTTGACGCGTGTGAAGATTTTAACATC
ACGAACGACACCATCACCAACCGTGAGGTACACGGAGTGAGGTATCACGTACT
TCACGAGATTTATCACCAAAGATAGCATGGAGAAGACGTTCTTCAGCAGAAA
15 GGTCTTTTTACCCCTTAGGTGTTACCTTACCAACAAGAATGTCACCTTCTTTAA
CCTCAGCACCGATACGGATAATACCCATTTTCGTCAAGGTCTTTGAGAGCTTCTT
CACCAACGTTTGGCAATTCACGTGTAATTTCTTCAGGTCCA – 3'

SEQ.ID. n°11 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus pyogenes*

20 CIP 56.41^T mesurant 725 paires de bases :

5'- TGTCATCAACCATGTGGTGAAGTTTGATCATATACATGACACCAACGGAT
ACACGGTTGTCAAATGGTTCACCGGTGCGACCATCATAAAGGACCGTCTTAGC
ATCGCTATCCATACCAGCTTCACGAACAGTGTCCCAAAGGTCTTCTGATGAAG
CCCCGTCAAAGACAGGTGTTGCAATGTGAATACCAAGATTACGAGCAGCCATA
25 CCAAGGTGAAGTTCCATAACCTGACCAATATTCATCCGTGATGGCACCCCAAG
AGGGTTCAACATGATGTCAACTGGTGTTCGGTCTGGAAGGTATGGCATGTCT
TCAACTGGTACAATACGTGAAACGACACCCCTTGTTTCCGTGACGACCGGCCAT
TTTATCTCCGACCTTGATTTTACGTTTTTGAGCGATGTAAACACGCACAAGCAT
ATTAACACCTGATTGCAATTCATCGCCGTTAGCGCGTGTAAAGATTTTCACATC
30 ACGAACGATACCATCACCAACCGTGAGGGACACGAAGTGAGGTATCACGCACT
TCACGCGATTTATCCCCAAAGATGGCGTGAAGTAAACGTTCTTCAGCAGAAAAG
GTCTTTTTACCTTTAGGTGTGACTTTACCTACTAAGATGTCGCCTTCTTTAAC
CTCAGCACCGATACGGATAATGCCCATTTTCGTCAAGGTCTTTGAGGGCTTCTT
CACCAACATTTGGGATTTCCGAGTGATTCTTCAGGGCA – 3'

SEQ.ID. n°12 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus pneumoniae* CIP 102911^T mesurant 724 paires de bases :

5' – CAACCATGTGGTGGAGTTTGATCATGTACATGACTCCGACAGAAAACACG
5 GTTATCAAACGGTTCACCAAGTACGTCCATCGTAAAGGATCGTTTTGGCATCGC
TATCCATACCTGCTTCTTTAACAGTTGACCAAAGATCTTCAGAACTTGCTCCAT
CAAAGACTGGTGTGCGGATGTGAATACCAAGAGTACGAGCTGCCATACCAAG
GTGAAGCTCCATAACCTGACCGATATTATACGTGATGGTACCCCAAGTGGGT
TCAACATGATGTCGACTGGAGTTCCGTCTGGAAGGTAAGGCATGTCTTCTACA
10 GGAACGATACGAGAGACAACCCCTTTGTTTCCGTGACGTCCGGCCATTTTATC
TCCGACCTTAATCTTACGTTTTTGAGCGATGTAAACACGAACCAACATGTTAAC
ACCTGATTGCAACTCATCTCCATTTACACGTGTAAAGATCTTAACATCACGAAC
GACACCATCGGCACCGTGTGGTACACGAAGAGAAGTATCACGCACTTCACGA
GACTTGTCTCCAAAGATAGCGTGCAAGAGACGTTCTTCAGCTGAAAGATCTTT
15 CTCACCCCTTAGGTGTTACTTTACCTACAAGAATATCACCTTCTTTAACCTCAGCA
CCAATACGGATAATCCCATTTTCGTCAAGGTCCTTTGAGGGGCATCTTCACCAACG
TTTTGGAATTTTCGCGAGTGATTTCTTCAGGTCCAA – 3'

SEQ.ID. n°13 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus oralis* CIP
20 102922^T mesurant 694 paires de bases :

5' –
ACTCGTGAAATTCCAAACGTTGGTGAAGATGCCCTTAAAGACCTTGACGAAAT
GGGTATTATCCGTATTGGTGCTGAGGTAAAGAAGGAGATATCCTTGTAGGT
AAAGTCACACCTAAGGGTGAAAAAGACCTTTCTGCTGAAGAACGTCTCTTGCA
25 CGCTATCTTCGGAGACAAGTCTCGTGAAGTGCCTGATACTTCTCTTCGAGTAC
CTCACGGTGCCGATGGTGTGCTTCGTGATGTTAAGATCTTTACACGTGCAAAT
GGTGATGAGTTGCAATCTGGTGTGAATATGCTGGTTCGTGTCTACATCGCTCA
AAAACGTAAGATCAAGTCGGAGATAAGATGGCCGGACGTCACGGAAACAAAG
GGGTTGTCTCTCGTATCGTTCCCTGTAGAAGACATGCCCTTACCTTCCAGATGGA
30 ACTCCAGTCGATATCATGTTGAACCCACTTGGGGTGCCATCACGTATGAATAT
CGGTCAGGTTATGGAACCTCCACCTTGGTATGGCAGCCCGTACTCTTGGTATCC
ACATCGCAACACCAGTCTTTGACGGAGCAAGTTCGGAAGACCTTTGGGACACT
GTAAAGAAGCAGGTATGGATAGCGATGCCAAAACAATCCTTTACGATGGAC

GTACAGGTGAGCCGTTTGACAACCGTGTATCAGTTGGTGTTCATGTACATGATC
AAACTCCA– 3'

SEQ.ID. n°14 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus mutans* CIP

5 103220^T mesurant 728 paires de bases :

5' – TGTCATCAACCATGTGGTGAAGTTTAAATCATATACATAACACCAACTGATA
CACGATTATCAAACGGCTCCCCTGTGCGACCATCATAAAGAACAGTTTTAGCA
TCAGAAATCCATACCGGCTTCTTTTACTGTTTCCCAAAGATCATCAGAAGTTGCT
CCGTCAAAGACAGGCGTTGCAATATGAATGCCCAAATTACGAGCAGCCATACC
10 AAGATGGAGTTCCATAACTTGCCCAATGTTTCATCCGTGATGGCACCCCAAGTG
GATTAAGCATGATATCAACAGGTGTTCCATCTGGAAGATATGGCATATCTTCC
ACTGGTACAATACGGGAAACGACACCCTTGTTACCATGACGTCCGGCCATCTT
ATCTCCGACCTTGATTTTACGTTTTTGAGCGATATAAACACGAACCAGCATGTT
AACACCTGATTGAAGTTCATCTCCATTAGCACGTGTAAAGATTTTCACATCACA
15 AACAACACCGTCGCCACCATGAGGTACACGAAGAGAAGTATCACGAACCTTCAC
GTGATTTGTCACCAAAAATGGCATGCAAGAGGCGTTCTTCTGCAGAAAGATCT
TTTTCTCCTTTAGGAGTCACTTTACCAACTAGAATATCACCTCTTTAACCTCAG
CACCAATGCGAATAATTCCCATTTTCATCAAGGTCTTTCAGGGCATCTTCACCAA
CATTTGGGATTTACGCGTAATTTCTTCAGGTCCA – 3'

20

SEQ.ID.n°15 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus mitis* CIP
103335^T mesurant 730 paires de bases :

5'– TGTCATCAACCATGTGGTGGAGTTTGATCATGTAACATGACTCCGACAGA
AAACACGGTTATCAAATGGTTCACCTGTACGTCCATCGTAAAGGATTGTTTTG
25 GCATCGCTATCCATACCAGCTTCTTTAACAGTTGACCAAAGATCTTCAGAACTT
GCTCCGTCAAAGACTGGTGTGCGATGTGAATACCAAGAGTACGAGCTGCCA
TCCCAAGGTGGAGTTCCATAACCTGACCGATATTCATACGTGATGGCACCCCA
AGTGGGTTCAACATGATATCGACTGGAGTTCCATCTGGAAGGTAAGGCATAT
CTTCTACAGGAACGATACGAGAGACAACCCCTTTATTTCCGTGACGTCCGGCC
30 ATCTTATCTCCGACCTTGATCTTACGTTTTTGAGCGATGTAGACGCGAACCAG
CATGTTGACACCTGATTGCAATTCATCTCCATTTGCACGTGTAAAGATCTTAAC
ATCACGAACCACACCATCAGCTCCGTGTGGTACACGAAGAGAAGTGTACGTA
CTTCACGAGATTTATCTCCGAAGATAGCGTGCAAGAGCCGTTCTTCAGCTGAA
AGGTCTTTCTCACCCCTTAGGTGTTACTTTACCTACAAGGATATCCCCTTCTTTA

ACCTCAGCACCGATACGGATAATACCCATTTCGTCAAGATCTTTAAGGGCATC
TTCCCCAACGTTTGGGATTTCACGAGTAATTTCTTCAGGTCCA – 3'

SEQ.ID. n°16 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus equinus*

5 CIP 102504^T mesurant 697 paires de bases :

5'-

CACTCGCGAAATTCCAAACGTTGGTGAAGAAGCTCTTAAAGACCTTGACGAAA
TGGGTATTATCCGTATCGGTGCTGAAGTTAAAGAAGGTGACATCCTTGTAGG
TAAAGTAACACCTAAAGGTGAAAAAGACCTTTCTGCTGAAGAGCGCCTTCTTC
10 ACGCAATCTTCGGTGATAAATCACGTGAAGTTCGTGATACATCACTTCGTGTA
CCACACGGTGGAGATGGTGTCTGTCGTGACGTAAAAATCTTTACACGTGCAAA
CGGTGATGAATTACAATCAGGTGTAAACATGCTCGTTCGTGTTTATATCGCAC
AAAAACGTAAAATCAAAGTCGGAGATAAAATGGCCGGTCGTACGGTAACAA
AGGGGTTGTTTCTCGTGTGTTCCAGTTGAAGACATGCCTTATCTTCCAGACG
15 GAACTCCAGTCGATATCATGTTGAACCCACTTGGGGTGCCATCTCGTATGAAC
ATCGGACAAGTTATGGAGCTTCACCTTGGTATGGCTGCTCGTAACCTTGGTAT
TCACATTGCAACACCAGTCTTTGATGGGGCAACTTCTGAAGACCTTTGGGATA
CAGTTAACGAAGCTGGTATGGCTAGCGACGCTAAGACAGTTCTTTACGATGG
ACGTACTGGTGAACCATTTGATAACCGTGTGTCAGTTGGTGTTCATGTACATGA
20 TTAAACTTCAC – 3'

SEQ.ID. n°17 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus constellatus*

CIP 103247^T mesurant 731 paires de bases :

5'- AGTTGTCATCAACCATGTGTGCAATTTAATCATATACATGACACCGACAGA

25 TACACGGTTGTCAAACGGCTCGCCCGTACGACCATCATAAAGAATCGTCTTGG
CATCGCTATCCATGCCTGCTTCACGAACAGTATCCCAAAGGTCATCTGAGCTT
GCTCCGTCAAATACTGGCGTTGCTATGTGGATACCAAGGTTGCGAGCAGCCA
TACCAAGGTGAAGCTCCATAACCTGTCCGATATTCATACGTGATGGCACCCCCA
AGTGGGTTCAACATGATGTCTACTGGTGTTCGTCTGGAAGATAAGGCATAT
30 CCTCAACTGGAACGATACGGGAAACAACCCCTTTATTTCCGTGGCGTCCGGCC
ATCTTATCCCCAACGCGGATCTTTCGTTTTTTGAGCAATGTAAACACGCACCAAC
ATGTTGACACCAGATTGCAATTCATCACCGTTCGCACGAGTAAAGATTTTCAC
ATCACGGACAACCCAGCACCAACCATGTGGTACACGAAGAGATGTGTACGTA
CTTCACGAGATTTATCACCGAAAATTGCATGAAGCAGGCGTTCTTCAGCGGAT

AAGTCTTTTTACCTTTTCGGCGTTACTTTACCGACAAGAATGTCGCCCTCTTTC
 ACCTCAGCACCAATGCGGATAATTCCCATTTTCGTCAAGGTCTCTTAGCGCATCT
 TCCCCAACGTTTGGAATTTTCGCGCGTAATTTCTTCAGGTCCAA – 3'

- 5 SEQ.ID. n°18 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus anginosus*
 CIP 102921^T mesurant 697 paires de bases :

5' –

CACGCGCGAAATTCCAAACGTCGGTGAAGATGCTTTGAGAGACCTTGACGAA
 ACGGGAATTATCCGCATTGGTGCTGAGGTAAAAGAAGGCGACATTCTTGTCG
 10 GTAAAGTAACACCGAAAGGTGAAAAAGACTTATCTGCTGAAGAACGCCTGCT
 TCATGCAATTTTCGGTGATAAATCTCGTGAAGTACGTGATACTTCCCTTCGTGT
 ACCACATGGTGGTGCAGGGGTGTCCGTGATGTGAAAATCTTTACTCGTGCG
 AACGGTGATGAATTGCAATCTGGTGTCAACATGTTGGTACGTGTTACATCGC
 TCAAAAACGGAAAATCCGTGTTGGGGATAAGATGGCTGGACGTCACGGAAAC
 15 AAAGGGGTTGTTTCCCGCATTGTTCCAGTTGAGGATATGCCGTATCTTCCAGA
 TGGAACACCAGTTGATATTATGTTGAACCCACTTGGGGTGCCATCTCGTATGA
 ATATTGGTCAAGTTATGGAGCTTCACCTCGGTATGGCTGCTCGCAACCTTGGC
 ATTCACATTGCAACACCAGTATTTGACGGGGCTAGCTCAGATGATCTTTGGGA
 AACCGTTTCGTGAAGCTGGCATGGATAGCGATGCTAAGACAATCCTTTATGAT
 20 GGCCGTACTGGTGAGCCATTTGATAATCGTGTATCCGTTGGTGTGATGTACAT
 GATCAAACCTCCAC – 3'

SEQ.ID. n°19 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus*
dysgalactiae CIP 102914^T mesurant 728 paires de bases :

25 5' – TGTCATCAACCATGTGGTGGAGTTTAATCATGTACATGACACCAACGGAT
 ACACGGTTGTCAAATGGTTCGCCAGTACGTCCATCATAAAGGACCGTCTTAGC
 ATCGCTATCCATAACAGCTTCACGAACAGTGTCCCAAAGGTCTTCTGATGAAG
 CCCC GTCAAAGACAGGTGTTGCAATGTGAATACCAAGATTACGAGCAGCCATA
 CCAAGGTGAAGTTCCATAACCTGACCAATGTTTCATCCGTGATGGCACCCCAAG
 30 AGGGTTCAACATGATGTCAACTGGTGTTCATCTGGAAGGTATGGCATGTCTT
 CAACTGGTACAATACGTGAAACGACACCCTTGTTTCCGTGACGACCAGCCATT
 TTATCTCCGACTTTGATCTTACGTTTTTGTGAGCAATGTAAACACGCACAAGCATA
 TTAACACCTGATTGCAATTCATCGCCGTTAGCGCGTGTAAAGATTTTCACATCA
 CGAACGATACCATCACCACCGTGAGGTACACGAAGGGACGTATCACGAACTTC

ACGTGATTTATCTCCAAAGATGGCATGCAAGAGACGCTCTTCAGCAGAAAGGT
CTTTTTCACCTTTAGGTGTGACTTTACCTACTAAGATGTCGCCTTCTTTAACCTC
AGCACCGATACGGATAATTCCCATTTTCGTCAAGGTCTTTGAGCGCTTCTTCACC
AACGTTTGGAATTTTCGCGGGTGATTTCTTCAGGTCAA – 3'

5

SEQ.ID. n°20 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus bovis* CIP
102302^T mesurant 728 paires de bases :

5' – TGTCATCAACCATGTGGTGAAGTTTGATCATGTACATGATACCAACAGAG
ACACGATTATCAAATGGTTACCTGTACGACCGTCATAAAGAACTGTCTTAGC
10 GTCGCTATCCATACCAGCTTCACGAACAGTATCCCAAAGGTCTTCTGAAGTTG
CCCCGTCAAAGACTGGAGTTGCAATGTGAATACCGAGGTTACGAGCTGCCAT
ACCAAGGTGAAGTTCCATAACTTGTCCGATATTCATACGAGATGGCACCCCAA
GAGGGTTCAACATGATATCAACTGGAGTTCCGTCTGGAAGATATGGCATGTC
TTCAACAGGAACGATACGAGAAACAACCCCTTTGTTTCCGTGACGACCGGCCA
15 TTTTATCTCCGACTTTGATTTTACGTTTTTGTGCAATGTAAACACGAACGAGCA
TGTTGACACCTGATTGCAATTCATCACCGTTAGCACGTGTGAAGATTTTAACA
TCAGGAACAACACCGTCTCCACCGTGTGGCACACGAAGTGATGTATCACGTAC
TTCACGAGATTTATCACCGAAGATTGCGTGAAGAAGGCGTTCTTCAGCAGAAA
GGTCTTTTTTACCTTTAGGTGTTACTTTACCTACAAGGATATCACCTTCTTTAA
20 CTTACGACCGATACGGATAATACCCATTTTCGTCAAGGTCTTTAAGAGCTTCTT
CACCAACGTTTGGAATTTTCGCGAGTGATTTCTTCAGGTCAA – 3'

SEQ.ID. n°21 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus*
acidominimus CIP 82.4^T mesurant 728 paires de bases :

25 5' – TTGTCATCAACCATGTGGTGGAGCTTAATCATGTACATGACACCAACAG
ACACACGGTTATCAAATGGTTACACAGTACGACCATCATAAAGAATCGTTTTTA
GCATCGCTGTCCATTCCCTGCCTCTTTAACAGTTGACCAGAGATCCTCTGAGCTC
GCACCATCGAAAACCGGTGTTGCGATATGGATACCCAAGTTACGAGCAGCCAT
ACCCAAGTGCAGTTCCATAACCTGACCAATATTCATACGAGATGGCACCCCAA
30 GTGGGTTCACATGATGTCAACTGGTGTTCATCTGGAAGATATGGCATGTCT
TCAACTGGTACAATACGAGAAACGACACCCTTGTTACCGTGACGACCGGCCAT
CTTATCTCCGACCTTAATCTTGCGTTTTTGTGAGCGATATACACACGTACCAGCAT
ATTAACACCAGACTGTAGCTCATCACCATTAGCACGCGTAAAGATTTTCACATC
ACGAACAACACCATCTGCACCGTGTGGCACACGTAGAGAGGTATCACGTACTT

CACGTGATTTGTCACCGAAGATAGCATGCAAGAGACGCTCCTCAGCAGAAAG
ATCTTTTTCACCTTTTGGTGTACCTTACCAACAAGAATATCGCCTTCTTTAACT
TCTGCACCGATACGGATAATACCCATTTTCGTCAAGGTCTTTGAGGGCTTCTTC
ACCAACGTTTGGAAATTCACGAGTAATTTCTTCAGGTCA – 3'

5

SEQ.ID. n°22 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus agalactiae*
CIP 103227^T mesurant 733 paires de bases :

5' – TGAGTTGTCATCAACCATGTGGTGAAGTTTGATCATGTACATGACACCAA
CTGACACACGGTTATCGAATGGTTCACCAGTACGACCATCATAAAGAACAGTC
10 TTAGCATCTGAATCCATACCTGCTTCTTGAACAGTTTCCCAAAGGTCTTCTGAA
GAAGCCCCATCAAAGACTGGCGTTGCAATATGAATACCTAAATTACGAGCAGC
CATACCTAAATGAAGCTCCATAACTTGTCCGATATTCATACGTGATGGCACCCC
AAGTGGGTTCAACATGATATCAACTGGCGTTCCATCTGGTAAGTAAGGCATAT
CTTCAACAGGAACAATACGTGAGACGACACCTTTGTTTCCGTGACGACCGGCC
15 ATCTTATCACCGACTTTGATTTTACGTTTTTGAGCGATATAAACGCGGACAAG
CATATTAACACCTGATTGCAATTCATCACCATTTGCACGAGTAAAGATTTTAAC
GTCACGAACTACTCCATCGCCACCGTGAGGTACACGTAGTGAAGTATCACGAA
CTTCACGTGATTTATCACCAAAAATGGCATGCAAGAGACGTTCTTCAGCAGAT
AAGTCCTTTTACCCTTAGGTGTTACCTTACCAACAAGAATGTCACCTTCTTTT
20 ACCTCAGCACCAATGCGGATAATTCCCATTTTCATCGAGATCACGTAGTGAATC
TTCACCAACATTTTGGATTTACGAGTAATTTCTTCAGGTCCA – 3'

SEQ.ID. n°23 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus difficilis* CIP
103768^T mesurant 714 paires de bases :

25 5' – TTGTCATCAACCATGTGGTGAAGTTTGATCATGTACATGACACCAACTGAC
ACACGGTTATCGAATGGTTCACCAGTATGACCATCATAAAGAACAGTCTTAGCAT
CTGAATCCATACCTGCTTCTTGAACAGTTTCCCAAAGGTCTTCTGAAGAAGCCCC
ATCAAAGACTGGCGTTGCAATATGAATACCTAAATTACGAGCAGCCATACCTAAA
TGAAGCTCCATAACTTGTCCGATATTCATACGTGATGGCACCCCAAGTGGGTTCA
30 ACATGATATCAACTGGCGTTCCATCTGGTAAATAAGGCATATCTTCAACAGGAAC
AATACGTGAGACGACACCTTTGTTTCCGTGACGACCGGCCATCTTATCACCGACT
TTGATTTTACGTTTTTGAGCGATATAAACGCGGACAAGCATATTAACACCTGATT
GCAATTCATCACCATTTGCACGAGTAAAGATTTTAACGTCACGAACTACTCCATC
GCCACCGTGAGGTACACGTAGTGAAGTATCACGAACTTCACGTGATTTATCACCA

AAAATGGCATGCAAGAGACGTTCTTCAGCAGATAAGTCCTTTTCACCCCTTAGGCG
TTACCTTACCAACAAGAATGTCACCTTCTTTTACCTCAGCACCAATGCGGATAATT
CCCATTTTCATCGAGATCACGTAGTGAATCTTCACCAACATTTGGAATTTACGAG
TA – 3'

5

SEQ.ID. n°24 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus intermedius*
CIP 103248^T mesurant 728 paires de bases :

5'- TGTCATCAACCATGTGGTGAAGCTTAATCATGTACATGACACCAACGGAC
ACACGGTTATCAAACGGTTCGCCAGTACGTCCATCATAAAGGATTGTCTTAGC
10 ATCGCTATCCATACCTGCTTCACGAACGGTTTCCCAAAGATCATCTGAGCTAGC
TCCGTCAAAGACTGGCGTTGCAATGTGGATACCAAGTTGCGAGCAGCCATAC
CGAGGTGCAATTCCATAACTTGTCCGATATTCATACGTGACGGCACCCCAAGA
GGATTCAACATGATATCAACTGGTGTCCCGTCTGGAAGATACGGCATATCCTC
AACTGGAACAATGCGGGAAACAACCCCTTTGTTTCCGTGGCGTCCGGCCATCT
15 TATCTCCAACGCGGATTTTCCGTTTTTGAGCGATATAAACACGTACCAACATGT
TGACACCGGATTGCAATTCATCACCGTTCGCACGAGTAAAGATTTTACATCAC
GGACAACACCTGCACCACCGTGTGGTACACGAAGGGAGGTATCACGCACTTC
ACGAGACTTATCACCAAAAATTGCATGAAGCAGGCGTTCTTCAGCGGATAAAT
CTTTTTCACCTTTCGGCGTTACTTTACCGACAAGAATGTCGCCTTCTTTTACCTC
20 AGCACCAATGCGGATAATTCCCATCTCGTCAAGGTCTCTCAAAGCATCTTCCCC
GACGTTTGGAATTTGCGCGGTGATTTCTTCAGGTCCA – 3'

SEQ.ID. n°25 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus equi* CIP
102910^T mesurant 728 paires de bases

25 5'- TGTCATCAACCATGTGGTGAAGCTTAATCATATACATGACACCAACTGAC
ACACGATTATCAAACGGCTCACCAGTACGGCCATCATAAAGAACAGTCTTAGC
ATCGCTATCCATACCTGCTTCACGAACAGTTTCCCAAAGGTCCTCAGACGTAGC
TCCGTCAAAGACCGGTGTTGCGATATGGATACCCAAATTACGAGCAGCCATAC
CTAGGTGAAGCTCCATAACCTGTCCAATGTTTCATACGAGACGGCACCCCAAGA
30 GGGTTCAGCATGATGTCAACAGGGGTTCGGTCTGGCAGATATGGCATATCCT
CAACCGGTACAATACGTGAGACGACACCCTTGTTACCATGACGCCCCGGCCATT
TTATCTCCGACCTTGATTTTACGCTTTTGAGCAATGTAAACACGCACCAGCATA
TTAACACCTGATTGAAGCTCATCACCATTTGCGCGTGTAAGATCTTCACATCA
CGTACAATCCCGTCACCACCATGAGGAACACGTAACGAGGTATCACGAACCTC

ACGTGATTTATCACCAAAGATAGCATGCAGGAGACGTTCTTCAGCAGAAAGG
TCTTTTTTACCCTTAGGAGTTACCTTACCAACAAGAATATCGCCTTCCTTGACC
TCTGCACCGATACGGATAATACCCATTTTCATCAAGGTCCTTGAGGGCTTCTTCA
CCAACGTTTGGCACTTCACGTGTGATTTCTTCAGGTCCA – 3'

5

SEQ.ID. n°26 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Enterococcus gallinarum*
CIP 103013^T mesurant 694 paires de bases :

5'-

CACTCGTGAAATCCCGAATGTCGGGGAAGACGCATTGAAAGATCTAGACGAA
10 ATGGGTATCATCCGCATTGGTGCGGAAGTCAAAGATGGCGATCTGTTGGTTG
GTAAAGTAACGCCTAAAGGGGTAAACGGAAGTCTGCAGAAGAACGCTTGCT
TCATGCAATCTTTGGTGAAAAAGCCCGCGAAGTCCGCGATACTTCTCTGCGCG
TACCTCACGGTGGTGGCGGAATCGTCCATGATGTGAAAATCTTTACCCGCGAA
GCTGGCGATGAATTGTCACCAGGTGTCAATATGCTCGTTCGCGTGTATATCGT
15 TCAAAAACGGAAAATCCATGAAGGGGATAAAATGGCCGGCCGTCACGGAAAT
AAAGGGGTTCGTTTCTCGCATTATGCCAGAAGAAGACATGCCTTTCTTACCAGA
CGGTACACCAGTTGATATCATGTTGAACCCATTAGGGGTGCCTTCACGGATGA
ACATTGGACAAGTATTGGAATTACACTTAGGAATGGCTGCCCCGCAATTAGGA
ATCCACGTGGCTACACCAGTCTTTGATGGTGCCAGCGATGAAGATGTCTGGG
20 CAACAGTTGCAGAAGCCGGCATGGCTAGCGACGCCAAAACCGTTTTTGTATGA
TGGCCGTACTGGAGAACCATTTGATGGTTCGAATCTCCGTAGGTGTCATGTATA
TGATCAAATTGGCC– 3'

25 SEQ.ID. n°27 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Enterococcus casseliflavus* CIP 103018^T mesurant 727 paires de bases :

5'- TGTCATCAACCATGTGGGCCAATTTGATCATGTACATGACACCAACGGAG
ATGCGGCCATCAAATGGTTCGCCGGTACGTCCGTCGTAAAGCACTGTTTTGGC
ATCGCTGGCCATTCTTGCTTCAGCAACCGTTGCCCAAACATCTTCATCGCTGGC
TCCATCAAAGACTGGTGTGTCACGTGAATGCCTAATTGACGCGCAGCCATTC
30 CTAAGTGTAACCTCTAATACTTGTCCAATGTTTCATCCGAGAAGGTACCCCTAATG
GGTTCAGCATGATATCGACTGGTGTGCCATCTGGTAAGAAAGGCATGTCTTCT
TCTGGCATAATGCGAGAAACGACCCCTTTGTTTCCGTGACGTCCGGCCATTTT
ATCCCCTTCATGGATTTTCCGTTTTTGAACGATATAAACGCGAACCAGCATGTT
CACACCTGGTGACAATTCATCGCCAGCTTCGCGGGTAAAGATTTTGACATCGT

GGACGATTCCGCCGCCGCCGTGAGGCACGCGTAGAGAAGTGTCACGCACTTC
GCGGGCTTTTTACCAAAGATTGCGTGCAACAAACGCTCTTCTGCTGAAAGTT
CCGTTACCCCTTTTGCGGTGACTTTCCCAACAAGCAGATCGCCATCTTTGACTT
CCGCACCAATGCGGATAATGCCATTTTCGTCTAGGTCTTTCAACGCGTCTTCCC
5 AACGTTCGGGATTTTCGCGAGTGATTTCTTCAGGTCCA – 3'

SEQ.ID. n°28 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Enterococcus saccharolyticus* CIP 103246^T mesurant 721 paires de bases :

5'- TGTCAATCAACCATGTGGGCAAGTTTAATCATGTACATTACCCCAACAGAG
10 ATACGACCATCGAATGGTTCACCCGTACGTCCGTCATAAAGAACAGTTTTTCGC
ATCGCGCGCCATGCCCCGCTTCGCGAACTGTTTCCCATACGTCAATCTGATGC
ACCATCAAATACTGGTGTAGCTACATGGATGCCTAACTGACGTGCAGCCATCC
CTAAGTGTAATTCCAATACTTGTCCGATGTTTCATACGAGATGGTACTCCTAGT
GGGTTCAACATGATATCAACTGGTGTGCCGTCTGGTAAGAATGGCATGTCTTC
15 TTCTGGCATAATGCGAGAGACAACCCCTTTGTTACCATGACGTCCCGCCATTTT
ATCTCCTTCGTGAATCTTACGTTTTTGCACGATATAAACACGAACATAACATGTT
CACACCTGGAGATAATTCGTGCGCTGCTTCACGGGTAAAGATTTTAACATCGT
GAACGATACCGCCACCGCCGTGAGGAACACGTAATGATGTATCACGTACTTCA
CGTGCTTTTTTCACCGAAGATTGCGTGCAATAGACGTTCTTCTGCAGATAATTC
20 GGTTACCCCTTTAGGAGTGACTTTACCTACTAATAAGTCGCCATCTTGTACTTC
GGCACCGATACGGATAATACCCATTTTCGTCTAAGTCTTTTAATGCGTCTTCCCC
AACGTTAGGAATTTTCGCGTGTATTCTTCAG – 3'

SEQ.ID. n°29 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Enterococcus faecium* CIP
25 103014^T mesurant 727 paires de bases :

5'- TGTCAATCAACCATGTGAGCAAGTTTGATCATGTACATCACACCGACAGAC
ACACGTCCATCAAATGGTTCACCTGTACGTCCGTCGTACAGAACAGTTTTTCGC
ATCGCTGGCCATACCGGCTTCACGAAGTGTTCATACGTCTTCATCACTTGC
ACCATCAAATACTGGCGTTGCTACGTGGATACCTAACTGACGTGCAGCCATAC
30 CCAAGTGTAATTCCAATACTTGCCCGATGTTTCATACGTGAAGGCACCCCTAAA
GGATTCAGCATGATATCGATTGGTGTTCATCAGGTAGGAATGGCATATCTTC
TTCCGGCATAATACGGGATACAACCCCTTTATTTCCGTGACGACCGGCCATTTT
ATCCCTTCATGGATTTTACGTTTTTGAACGATATAAACACGAACATAACATGTT
TACGCCTGGTGACAATTCATCTCCAGCTTCACGAGTAAAGATTTTCACATCGT

GAACGATACCGCCGCCGCCATGTGGTACACGTAATGATGTATCGCGGACTTCA
CGAGCTTTTTTCGCCAAAGATCGCATGCAATAGACGTTCTTCTGCAGATAATTCT
GTTACCCCTTTTTGGCGTGACTTTCCCTACAAGCAAATCGCCATCTTGGACTTCT
GCACCAATACGGATGATACCCATTTCTGTCTAAATCTTTAATGCGTCTTCCCGA
5 CATTAGGGATTTCGCGTGTGATTTCTTCAGGTCCA – 3'

SEQ.ID. n°30 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Enterococcus faecalis* CIP
103015^T mesurant 724 paires de bases :

5'- TGTCATCAACCATGTGGGCTAATTTAATCATATACATGACACCAACGGAA
10 ATACGGTTATCAAATGGTTCACCTGTACGTCCATCGTAAAGAACTGTTTTAGC
ATCGCTAGCCATACCAGCTTCACGAACAGTTTCCCAAACGTCTTCATCGGTTGC
CCCATCGAAAACAGGTGTTGCGACGTGAATACCTAATTGGCGAGCAGCCATAC
CTAAGTGTAATTCAAGTACTTGTCCGATATTCATACGAGAAGGTACCCCTAAT
GGGTTCAACATGATATCAACAGGTGTTCCGTCAGGTAAGAATGGCATATCTTC
15 TTCCGGCATAATACGGGAAACAACCCCTTTATTTCCGTGACGTCCCGCCATTTT
ATCTCCTTCGTGAATTTTACGTTTTTGAACGATATAGACACGAACTAACATGTT
GACACCTGGTGATAATTCATCGCCAGCTTCACGAGTAAAGATTTTCACATCAT
GAACGATACCGCCGCCACCGTGAGGTACACGGAGAGACGTATCACGAAC TTC
GCGGGCTTTTTTCCCGAAGATTGCGTGTAATAAACGTTCTTCTGCAGATAATT
20 CTGTGACCCCTTTAGGTGTGACTTTCCCAACTAGTAAGTCGCCATCTTGAAC TT
CAGCACCAATGCGGATAATCCCATTTCTGTCTAAGTCTTTCAACGCGTCTTCCC
AACGTTTGGAATTTACAGGGTATTTCTTCAGGTCA – 3'

SEQ.ID. n°31 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Enterococcus avium* CIP
25 103019^T mesurant 570 paires de bases :

5'- GTCCATCATAAAGAACGGTCTTAGCATCTGCTGCCATACGAGCTTCACGA
ACTGTTTCCCAAACATCGCTATCTTGCGCACCATCGAAGACTGGTGTCGCAAC
ATGGATACCTAGTTGGCGAGCCGCCATTCCCAAGTGTAATTCCAACACTTGTC
CGATGTTTCATCCGAGATGGCACACCTAATGGGTTCAACATGATATCAACTGGC
30 GTACCGTCTGGTAAGAAAGGCATGTCTTCTTCTGGCATAATGCGAGAAACGA
CCCCTTTATTTCCGTGACGGCCGGGCATTTTATCCCCTTCATGAATCTTACGTT
TTTGCACGATGTACACGCGCACTAACATATTTACACCTGGAGATAATTCATCGC
CTGCTTCACGAGTAAAGATCTTCACATCGTGAACGATCCCGCCGCCACCATGC
GGTACACGAAGAGATGTATCACGAAC TTCACGAGCCTTTTCACCAAAGATCGC

ATGCAACAAACGTTCTTCAGCTGATAATTCTGTTACCCCTTTAGGAGTGACTTT
ACCAACTAATAAATCACCATCATGAACTTCAGCACCAATAC -3'

SEQ.ID. n°32 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Abiotrophia defectiva* CIP

5 103242^T mesurant 732 paires de bases :

5'- GAAGTTGTCATCAACCATGTGGGCCAACTTAATCATGTACATAACCCCAA
CAGAGACTTTACGGTCAAATGGTTCACCGGTTTCGACCATCATATAAGATAGTC
TTAGCGTCAGCTTCTAAGCCGGCTTCCTTAACTGTTTCCCAGACATCTTCTTCA
CTAGCACCGTCAAAGACAGGTGTTGCAATCTTGATGCCCATTTTCGCGAGCAGC
10 CATCCCCAAGTGTAACCTCTAGGACTTGCCCGATGTTTCATACGGGATGGAACCC
CTAATGGGTTCACATGATATCAACTGGGGTACCATCTGGTAAGAATGGCATA
TCTTCTTCCGGCATGATAAGGGAGACAACCCCTTTGTTACCGTGACGACCGGC
CATCTTATCCCTTCATTGATTTTACGTTTTTGTACGATGTAGACGCGGACTAG
CTTGTTGACACCTGGTGCCAATTCGTCGCCAGCTTCGCGGGTAAAGATTTTAA
15 CGTCGTGGACAATCCCGCCCCCGCCGTGTGGCACACGCAAGGAAGTATCACG
TACTTCACGCGCCTTCTCACCGAAGATAGCATGGAGCAAGCGTTCTTCCGCAG
ACAACCTCGGTACACCTTTTGGTGTTACCTTACCAACTAAGATATCGCCGTCTT
TTACTTCCGCCCCGATACAGATAATCCCGTCTTGGTCTAAGTACTTGAGGGCA
TCTTCGGACACGTTTGGAATTTTCGCGTGTAATTTCTTCAGGTCA - 3'

20

SEQ.ID. n°33 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Gemella morbilorum* CIP
81.10^T mesurant 727 paires de bases :

5'- TGTCAATCAACCATGTGTGCAAGTTTATCATGTACATTACCCCTACAGATAC
ACGGCTATCAAATGGCTCACCTGTACGTCCGTCATAAAGAACTGTCTTAGCAT
25 CTTTAGCCATTCCAGCTTCCGCAACTGTAGACCAAACATCTTCATCAGTAGCAC
CATCGAATACTGGTGTAGCTACGTGGATTCCAAGTTGTTTAGCAGCCATACCT
AAGTGTAGCTCTAATACTTGTCCAATGTTTCATACGAGATGGAACCCCAAGTGG
GTTTAACATTACGTCAACTGGTGTTACCATCTGGTAGGTAAGGCATATCTTCTT
CTGGTAAGATATTTGAGATAACCCCTTTGTTACCGTGACGACCGGCCATTTTA
30 TCTCCTACACGAATTTTACGTTTTTGGACGATAAATACACGAACAAGTTCATTT
ACACCGTTAGGTAATTCAGCACCATCTTCACGTTTAAAGATTTTAAACATCAGCA
ACTACTCCATCAGCACCGTGAGGTACACGTAATGAAGTATCACGTACTTCTTTA
GATTTAGCTCCAAAGATAGCATATAATAATTTTTCTTCTGGAGTTTGTTTCAGTT
AATCCTTTCGGTGTAACTTTACCTACTAAAATATCTCCATCTTTAACTTCAGCC

CCAATACGAATGATTCCCTCGTGCATCTAAGTTTCTAAGTGCATTTTCACCCTAC
GTTTGGAATCTCACGAGTAATTTCTTCAGGTCA – 3'

SEQ.ID. n°34 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Gemella haemolysans* CIP

5 101126^T mesurant 726 paires de bases :

5'- TGTCATCAACCATGTGTGCAAGTTTAATCATGTACATTACCCCTACAGATA
CACGGCTATCAAATGGCTCACCTGTACGTCCGTCATAAAGAACTGTCTTAGCA
TCTTTAGCCATTCCAGCTTCCGCAACTGTAGACCAAACATCTTCATCAGTAGCA
CCATCGAATACTGGTGTAGCTACGTGGATTCCAAGTTGTTTAGCAGCCATACC
10 TAAGTGTAGCTCTAATACTTGTCCAATGTTTCATACGAGATGGAACCCCAAGTG
GGTTTAACATTACGTCAACTGGTGTACCATCTGGTAGGTAAGGCATATCTTCT
TCTGGTAAGATATTTGAGATAACCCCTTTGTTACCGTGACGACCGGCCATTTT
ATCTCCTACACGAATTTTACGTTTTTGGACGATAAATACACGAACAAGTTCATT
TACACCGTTAGGTAATTCAGCACCATCTTCACGTTTAAAGATTTTAACATCAGC
15 AACTACTCCATCAGCACCGTGAGGTACACGTAATGAAGTATCACGTACTTCTTT
AGATTTAGCTCCAAAGATAGCATATAATAATTTTTCTTCTGGAGTTTGTTTCAGT
TAATCCTTTTCGGTGTAACTTTACCTACTAAAATATGTCATCTTTAACTTCAGC
CCCAATACGAATGATTCCCTCGTGCATCTAAGTTTCTAAGTGCATTTTCACCCTAC
GTTTGGAATCTCACGAGTATTCTTCAGGTCCA – 3'

20

SEQ.ID. n°35 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Granulicatella adjacens*
CIP 103243^T mesurant 719 paires de bases :

5'- CATCAACCATGTGAGCAAGTTTGATCATGTACATAACCCCTACTGACACA
CGGTTATCGAATGGTTCCCCTGTACGTCCATCATATAGAATTGTTTTCGCATCA
25 CGAGCCATAACCGCTTCTGCAACAGTTCCCCATACGTCTTCATCTTGCGCACCA
TCGAATACTGGTGTGCGATGTAAATACCTAATTCACGAGCAGCCATCCCTAA
GTGTAACCTCTAACACTTGTCCGATGTTTCATACGTGAAGGTACCCCTAATGGGT
TTAACATGATGTCAACTGGTGTTCATCTGGTAAGAATGGCATATCTTCTTCC
GGCATAATACGGGAAACAACCCCTTTATTACCGTGACGTCCGGCCATCTTATC
30 CCTTCATTGATTTTACGTTTTTGTACAATATATACACGAACCTAATTTGTTTACG
CCAGGTGCTAATTCATCACCTGCTGCACGTGTGAATACACGTACATCACGGAC
AATACCGCCACCGCCGTGAGGTACACGTAGAGATGTGTCACGAACCTTCACGA
GCTTTTTTACC GAAGATTGCGTGTAATAAACGTTCCCTCTGGTGATTGTTCTGTT
AACCCCTTAGGAGTTACTTTACCAACTAAGATGTCACCATCTTTAACTTCGGCA

CCGATACGAATAATTCCGTCTGCGTCTAGGTTCTTCAATGCGTCTTCCCAACGT
TTGGAATCTCACGAGTAATTCTTCAGG – 3'

Dans les séquences ci-dessus, le nucléotide M désigne A ou C, le nucléotide R désigne A ou G, le nucléotide W désigne A ou T, le nucléotide Y désigne C ou T et le nucléotide N désigne A, T, C ou G.

Dans les séquences ci-dessus, les références CIP se rapportent à des dépôts à la Collection Nationale de Culture des Microorganismes (CNCM) de l'Institut Pasteur à Paris (France).

Exemple 3. Identification en aveugle d'une collection de 20 souches bactériennes comprenant 10 souches de bactéries appartenant aux genres *Streptococcus* et genres apparentés.

Une collection de vingt souches appartenant aux espèces bactériennes suivantes: *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus sanguis*, *Granulicatella adjacens*, *Abiotrophia defectiva*, *Enterococcus avium*, *Enterococcus faecalis*, *Gemella haemolysans*, *Gemella morbillorum*, *Streptococcus equi*, *Streptococcus anginosus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas oleovorans*, *Mycobacterium avium*, *Bacillus cereus*, *Acinetobacter anitratus*, *Corynebacterium amycolatum*, *Klebsiella terrigena*, *Pasteurella*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Staphylococcus*, a été codée de façon à réaliser une identification moléculaire en aveugle (l'expérimentateur ne connaissant pas a priori l'identité des souches) des souches selon le procédé décrit dans la présente demande de brevet. L'extraction des acides nucléiques ainsi que l'amplification du fragment du gène *rpoB* ont été réalisées comme décrites dans l'exemple n°2 en incorporant des amorces consistant dans des mélanges de 4 oligonucléotides qui ont des séquences consistant dans les séquences SEQ ID N°6 (comme amorce 5') et SEQ ID N°7 (comme amorce 3') avec N représentant l'inosine, dans une amplification PCR (Fig. 1). Le séquençage de ces 10 amplifiats a été réalisé en incorporant dans la réaction de séquençage les amorces SEQ ID N°6 et SEQ ID N°7 comme décrit dans l'exemple n°2 et la comparaison des séquences obtenues avec les séquences SEQ.ID n° 1 à 5 et 8 à 35 a permis d'identifier les dix souches amplifiées comme étant *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus sanguis*, *Granulicatella adjacens*, *Abiotrophia defectiva*, *Enterococcus avium*,

Enterococcus faecalis, *Gemella haemolysans*, *Gemella morbilorum*, *Streptococcus equi*, *Streptococcus anginosus*. Le décodage de ces 10 souches a montré 100% de concordance entre l'identification moléculaire selon le procédé faisant l'objet de la présente invention et l'identification établie antérieurement par les méthodes phénotypiques standard. Ce résultat illustre la spécificité du jeu d'amorces SEQ ID N°6/SEQ ID N° 7 ~~utilisé pour ce travail~~.

Les autres bactéries choisies pour ce qu'elles sont fréquemment isolées dans les prélèvements cliniques humains ou animaux susceptibles de contenir également des bactéries du genre *Streptococcus*, n'ont pas été amplifiées, démontrant ainsi la spécificité des amorces utilisées pour le genre *Streptococcus* et dits 4 genres apparentés dans les conditions d'utilisation pour la détection des bactéries du genre *Streptococcus* et dits 4 genres apparentés selon l'invention par rapport aux bactéries d'un autre genre.

Sur la figure 1 sont représentés les produits d'amplification PCR obtenus à partir de dix souches bactériennes codées, comportant 7 souches appartenant au genre *Streptococcus* et lesdits 4 genres apparentés (colonnes 2, 3, 4, 7 -11) et 3 souches bactériennes de genres bactériens autres que *Streptococcus* et lesdits 4 genres apparentés (colonnes 5,6 et 12). Les colonnes 1 et 13 représentent le marqueur de poids moléculaire. Les produits d'amplification sont obtenus après incorporation des amorces SEQ ID N°6 et SEQ ID N° 7 décrits ci-dessus et sont visualisés par coloration au bromure d'éthidium après électrophorèse sur un gel d'agarose.

REVENDEICATIONS

1. Gène ou fragment de gène *rpoB* d'une bactérie du genre *Streptococcus* et des 4 genres apparentés *Enterococcus*, *Gemella*, *Abiotrophia* et *Granulicatella*, caractérisé en ce qu'il comprend une séquence choisie parmi
5 les séquences SEQ.ID. n° 8 à 35 dans lesquelles :

- le nucléotide K représente T ou G,
- le nucléotide M représente A ou C,
- le nucléotide R représente A ou G,
- le nucléotide W représente A ou T,
- 10 - le nucléotide Y représente C ou T,
- le nucléotide N représente A, T, C, G ou I, et

les séquences inverses et séquences complémentaires ainsi que les séquences présentant au moins 98,7% d'homologie, à l'exclusion des séquences SEQ ID n°11, 12, 14 et 22.

15 2. Gène *rpoB* d'une des bactéries *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus equinus*, *Abiotrophia defectiva* et *Enterococcus faecalis* selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il correspond à l'une des séquences choisie parmi les séquences SEQ.ID. n° 1 à 3 et SEQ ID n°5, dans lesquelles :

- le nucléotide K représente T ou G,
- 20 - le nucléotide M représente A ou C,
- le nucléotide R représente A ou G,
- le nucléotide W représente A ou T,
- le nucléotide Y représente C ou T,
- le nucléotide N représente A, T, C, G ou I,

25 et les séquences inverses et séquences complémentaires, ainsi que les séquences présentant au moins 98,7% d'homologie.

3. Fragment d'un gène *rpoB* d'une bactérie du genre *Streptococcus* et des 4 genres apparentés *enterococcus*, *Gemella*, *Abiotrophia* et *Granulicatella*, caractérisé en ce que sa séquence est comprise ou consiste dans l'une des
30 séquences SEQ.ID. n° 8 à 35, dans lesquelles :

- le nucléotide K représente T ou G,
- le nucléotide M représente A ou C,
- le nucléotide R représente A ou G,

- le nucléotide W représente A ou T,
- le nucléotide Y représente C ou T,
- le nucléotide N représente A, T, C, ou G

et les séquences inverses et séquences complémentaires, ainsi que les
5 séquences présentant au moins 98,7% d'homologie.

4. Oligonucléotide caractérisé en ce qu'il comprend une séquence
spécifique d'une espèce d'une bactérie du genre *streptococcus* et dits genres
apparentés, de préférence d'au moins 20 nucléotides consécutifs, de préférence
encore au moins 30 nucléotides consécutifs inclus dans l'une des dites
10 séquences SEQ ID n°8 à 35., dans lesquels :

- le nucléotide K représente T ou G,
- le nucléotide M représente A ou C,
- le nucléotide R représente A ou G,
- le nucléotide W représente A ou T,
- 15 - le nucléotide Y représente C ou T,
- le nucléotide N représente A, T, C, ou G

et les séquences inverses et séquences complémentaires, ainsi que les :
séquences présentant au moins 98,7% d'homologie.

5. Utilisation d'un gène, fragment de gène ou oligonucléotide selon
20 l'une des revendications 1 à 4 à titre de sonde d'espèce d'une bactérie du genre
streptococcus et dits genres apparentés.

6. Oligonucléotide caractérisé en ce qu'il comprend une séquence
d'au moins 8, de préférence au moins 12, de préférence encore 18 à 35 motifs
nucléotidiques, dont au moins une séquence de 8 motifs nucléotidiques
25 consécutifs inclus dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 6 et 7 suivantes :

- SEQ ID N° 6 : 5' AARYTNGGMCCTGAAGAAAT-3', et
- SEQ ID N°7: 5'-TGNARTTTTRTCATCAACCATGTG-3',

dans lesquelles :

- N représente l'inosine ou l'un des 4 nucléotides A, T, C ou G,
- 30 - R représente A ou G,
- M représente A ou C, et
- Y représente C ou T,

et les séquences inverses et séquences complémentaires.

7. Mélange d'oligonucléotides, caractérisé en ce qu'il est constitué d'un mélange équimolaire d'oligonucléotides selon la revendication 6, ayant tous une séquence différente et comprenant tous une séquence incluse dans SEQ ID n°6 ou tous une séquence incluse dans SEQ ID n°7.

5 8. Mélange d'oligonucléotides, caractérisé en ce qu'il est constitué d'un mélange équimolaire de 32 oligonucléotides selon la revendication 7, de séquences différentes comprenant chacune au moins 15, de préférence au moins 18 motifs nucléotidiques consécutifs, inclus dans la séquence suivante :

- SEQ ID N° 6 : 5' AARYTNGGMCCTGAAGAAAT-3',

10 dans laquelle :

- R représente A ou G,
- Y représente C ou T,
- M représente A ou C, et
- N représente A, T, C ou G,

15 et les séquences inverses et séquences complémentaires.

9. Mélange d'oligonucléotides, caractérisé en ce qu'il est constitué d'un mélange équimolaire de 8 oligonucléotides selon la revendication 7 de séquences différentes comprenant chacune au moins 15, de préférence au moins 18 motifs nucléotidiques consécutifs inclus dans la séquence suivante :

20 - SEQ ID N° 6 : 5' AARYTNGGMCCTGAAGAAAT-3',

dans laquelle :

- R représente A ou G,
- Y représente C ou T,
- M représente A ou C, et
- 25 - N représente l'inosine,

et les séquences inverses et séquences complémentaires.

10. Mélange d'oligonucléotides, caractérisé en ce qu'il est constitué d'un mélange équimolaire de 16 oligonucléotides selon la revendication 7, de séquences différentes comprenant chacune au moins 15, de préférence au moins 21 motifs nucléotidiques consécutifs inclus dans la séquence suivante :

30 - SEQ ID N°7: 5'-TGNARTTTRTCATCAACCATGTG-3',

dans laquelle :

- R représente A ou G, et

- N représente A, T, C ou G,

et les séquences inverses et séquences complémentaires.

11. Mélange d'oligonucléotides, caractérisé en ce qu'il est constitué d'un mélange équimolaire de 4 oligonucléotides selon la revendication 7, de séquences différentes comprenant chacune au moins 15, de préférence au moins 21 motifs nucléotidiques consécutifs inclus dans la séquence suivante.:

- SEQ ID N°7: 5'-TGNARTTTTRTCATCAACCATGTG-3',

dans laquelle :

- R représente A ou G, et

10 - N représente l'inosine,

et les séquences inverses et séquences complémentaires.

12. Mélange d'oligonucléotides selon l'une des revendications 7 à 11, caractérisé en ce que lesdites séquences consistent dans les séquences SEQ.ID. n° 6 et 7 dans lesquelles, de préférence, N représente l'inosine, et les séquences inverses et séquences complémentaires.

13. Utilisation d'un oligonucléotide ou mélange d'oligonucléotides selon l'une des revendications 6 à 12, à titre d'amorce d'amplification ou sonde de genre d'une bactérie du genre *Streptococcus* et dits genres apparentés.

14. Procédé de détection par identification moléculaire d'une bactérie de l'une des espèces du genre *Streptococcus* et des 4 genres apparentés *Enterococcus*, *Gemella*, *Abiotrophia* et *Granulicatella*, caractérisé en ce qu'on utilise :

- un gène ou fragment de gène *rpoB* ou un oligonucléotide selon l'une des revendications 1 à 4 ainsi qu'un gène ou fragment de gène *rpoB* d'une bactérie *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus mutans* et *Streptococcus agalactiae* comprenant une séquence telle que décrite respectivement dans les séquences SEQ. ID n°11, 12, 14 et 22, ainsi que les séquences inverses et séquences complémentaires, et séquences présentant au moins 98,7% d'homologie, et/ou

30 - au moins un oligonucléotide ou mélange d'oligonucléotides selon l'une des revendications 6 à 12.

15. Procédé selon la revendication 14 dans lequel on cherche à détecter la présence d'une bactérie du genre *streptococcus* ou desdits 4 genres apparentés, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes dans lesquelles:

1- on met en contact au moins une sonde de genre comprenant un dit
5 mélange d'oligonucléotides selon l'une des revendications 7 à 12, avec un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie du genre *Streptococcus* et ses dits 4 genres apparentés, et

2- on détermine la formation ou l'absence de formation d'un complexe
10 d'hybridation entre ladite sonde de genre et les acides nucléiques de l'échantillon, et on détermine ainsi la présence de ladite bactérie dans l'échantillon s'il y a formation d'un complexe d'hybridation.

16. Procédé selon la revendication 14, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes dans lesquelles :

1- on met en contact les amorces d'amplification comprenant desdits
15 mélangés d'oligonucléotides selon l'une des revendications 7 à 12, avec un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie du genre *Streptococcus* et lesdits 4 genres apparentés, et avec :

- comme amorce 5', un dit mélange d'oligonucléotides comprenant une
20 séquence incluse dans la séquence SEQ.ID. n°6, de préférence consistant dans ladite séquence SEQ ID N°6 complète, ou une dite séquence complémentaire selon l'une des revendications 7, 8, 9 ou 12, et

- comme amorce 3' un dit mélange d'oligonucléotides comprenant une
25 séquence incluse dans la séquence SEQ.ID. n°7, ou de préférence consistant dans ladite séquence SEQ ID N°7 complète ou une séquence complémentaire selon l'une des revendications 7, 10, 11 ou 12

2- on réalise une amplification d'acides nucléiques par réaction de polymérisation enzymatique et on détermine l'apparition ou l'absence d'un
30 produit d'amplification, et on détermine ainsi la présence de ladite bactérie dans l'échantillon si un produit d'amplification est apparu.

17. Procédé selon la revendication 14 ou 16, caractérisé en ce qu'on cherche à détecter spécifiquement une espèce donnée d'une bactérie du groupe *Streptococcus* et lesdits 4 genres apparentés choisie parmi les espèces :

Streptococcus mutans, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus pneumoniae*,
5 *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*,
... *Streptococcus suis*, *Streptococcus acidominimus*, *Streptococcus agalactiae*,
Streptococcus anginosus, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus difficilis*,
Streptococcus dysgalactiae, *Streptococcus equi*, *Streptococcus equinus*,
Streptococcus intermedius, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus bovis*,
10 *Streptococcus alactolyticus*, *Streptococcus gallolyticus*, *Streptococcus macedonicus*, *Streptococcus infantarius*, *Streptococcus hominis*, *Granulicatella adjacens*, *Abiotrophia defectiva*, *Enterococcus avium*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus sacharolyticus*, *Gemella haemolysans* et *Gemella morbillorum*,
15

procédé dans lequel :

1- on met en contact un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie, avec au moins une sonde d'espèce consistant dans un gène ou fragment de gène selon l'une des
20 revendications 1 à 3, ou un oligonucléotide selon la revendication 4, et

2- on détermine la formation ou l'absence d'un complexe d'hybridation entre ladite sonde et les acides nucléiques de l'échantillon, et on détermine ainsi la présence de ladite bactérie dans l'échantillon s'il y a formation d'un complexe d'hybridation.

25 18. Procédé selon la revendication 14, caractérisé en ce qu'on cherche à détecter une espèce donnée d'une bactérie du genre *Streptococcus* et lesdits 4 genres apparentés choisie parmi les espèces :

Streptococcus mutans, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus pneumoniae*,
Streptococcus pyogenes, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*,
30 *Streptococcus suis*, *Streptococcus acidominimus*, *Streptococcus agalactiae*,
Streptococcus anginosus, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus difficilis*,
Streptococcus dysgalactiae, *Streptococcus equi*, *Streptococcus equinus*,
Streptococcus intermedius, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus bovis*,

Streptococcus alactolyticus, *Streptococcus gallolyticus*, *Streptococcus macedonicus*, *Streptococcus infantarius*, *Streptococcus hominis*, *Granulicatella adjacens*, *Abiotrophia defectiva*, *Enterococcus avium*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus sacharolyticus*, *Gemella haemolysans* et *Gemella morbillorum*, procédé dans lequel, dans un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie du genre *Staphylococcus*, on effectue les étapes dans lesquelles :

a) on réalise une réaction de séquençage d'un fragment du gène *rpoB* amplifié d'une dite bactérie donnée à l'aide des amorces nucléotidiques consistant dans desdits mélanges d'oligonucléotides selon l'une des revendications 7 à 12 comprenant des séquences incluses dans la séquence SEQ.ID. n° 6 comme amorce 5' et SEQ.ID. n° 7 comme amorce 3', de préférence des séquences consistant dans lesdites séquences SEQ.ID. n° 6 et 7, et lesdites séquences complémentaires, et

b) on détermine la présence ou l'absence de l'espèce donnée de ladite bactérie en comparant la séquence dudit fragment obtenu avec la séquence du gène complet *rpoB* de ladite bactérie ou la séquence d'un fragment du gène *rpoB* de ladite bactérie comprenant respectivement lesdites séquences SEQ ID n° 8 à 35 selon l'une des revendications 1 à 4 et séquences complémentaires, et on détermine ainsi la présence de ladite bactérie dans l'échantillon si la séquence du fragment obtenue est identique à la séquence connue du gène ou du fragment de gène *rpoB* de ladite bactérie.

19 Trousse de diagnostic utile dans un procédé selon l'une des revendications 14 à 18, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un dit oligonucléotide, mélange d'oligonucléotides, ou fragment de gène selon l'une des revendications 1 à 4 et 6 à 12.

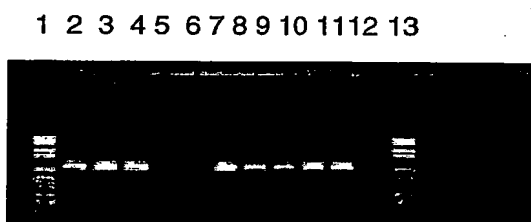


FIG. 1

SEQUENCE LISTING

<110> UNIVERSITE DE LA MEDITERRANEE (Aix-Marseille II) et CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE - CNRS
UNIVERSITE DE LA MEDITERRANEE (Aix-Marseille II) et CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE - CNRS

<120> Identification moléculaire des bactéries du genre Streptococcus

<130> H52 437 cas 10 PCT MD

<160> 52

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1
<211> 4523
<212> DNA
<213> Streptococcus anginosus

<220>
<221> misc_feature
<222> (266)..(2087)
<223> n représente a, t, c, g ou i

<220>
<221> misc_feature
<222> (266)..(4430)
<223> n représente a, t, c, g ou i

<220>
<221> misc_feature
<222> (4430)..(4503)
<223> n représente a, t, c, g ou i

<400> 1
tcatactttt agagtcagat ttagctgctc tttttgtgcc tgttttggga tttttgtcgt 60
ttgtcatcaa aattaaagat tctgaaaatt actcaaaaag gataaatgaa aattgctact 120
ctattccatt aatagagaat gtagaaagaa gaaggagtaa aaaacttggc aggacatgaa 180
gttcaatacg ggaaacaccg tactcgtcgt agtttttcaa gaatcaagga agttcttgat 240
ttaccaaatt tgattgaaat ccaganggat tcgttcaaag attttcttga ccatggtttg 300
aaagaagtat ttgaagatgt acttcctatc tcaaacttta cagatacaat ggagctagag 360
tttgttggtt atgaaattaa aggatctaaa tacacttttag aagaagcacg tatccatgat 420
gccagctatt ctgcacctat ttttgtgact ttccgtttga ttaataaaga aactggtgaa 480
atcaaaaccc aagaagtgtt ctttggcgat ttcccaatca tgacagaaat gggaactttc 540

attatcaatg gtggtgagcg gattatcgta tctcagctcg ttcgttctcc aggtgtttac 600
ttcaacgata aagtaracaa aaatggtaaa gttggttatg gttcaactgy cattcctaac 660
cgtggagcctt ggtagagct ggaaacagac tcaaaagata ttgcttatac tcggattgac 720
cgtactcgta agattccgtt tacgacactt gttcgtgcgc ttggtttttc tggcgatgat 780
gaaatctttg acattttcgg cgacagcgat ctcgttcgca acacgattga aaaggatatt 840
cataaaaaac caatggattc acgtacggat gaagcgctta aagaaatcta tgaacgtctt 900
cgtccagggtg agcctaaaac agctgatagt tcacgtagtc tattggtcgc tcgtttcttt 960
gatccacatc gttacgactt ggcggcagtt ggtcgttata aaatcaataa aaaattaaac 1020
attaaaacac gtttggttaa tcaaacgatt gcagagcctt tggtagatcc agaaacaggt 1080
gaaatcttgg ttgaagctgg aacggttatg acgcgtagtg tcattgatag cattgcagaa 1140
tacttggacg gtgatttgaa taaaatcact tatattccaa atgatgcagc tgtgttaaca 1200
gagccagttg ttcttcaaaa attcaaagtg gtggcgccaa ctgatccaga tcgtgtggtg 1260
actattattg gtaatgccaa cccaggagat cgagttcata cgattacgcc agcagatatt 1320
ttggctgaga tgaattactt cttgaacctc gctgaaggac ttggtcgtgt ggacgatatt 1380
gaccacttgg gaaatcgtcg gattcgtgcc gttggtgaat tgcttgctaa ccaagtacgt 1440
cttggcttgt ctcgatgga gcgaaacgtt cgggagcgca tgagtgtgca agataatgaa 1500
gtgttgacac cgcaacaaat cattaacatc cgcccagtca cagcagctat caaagaattc 1560
tttggttcat ctcaattgtc tcaatttatg gaccaacata atccactgtc tgarttgtct 1620
caciaacgyc gtttgtccgc cttgggacct ggtggttga ctcgtagcgc tgctggatat 1680
gaargtgctg gacgtgcact acacncaacta tggctgatat tgtccgattg aaacncctga 1740
vggaccaaac atcggtttga tcaayaactt gtcttcttat ggtcanttga ataaatatgg 1800
ctttatccaa acgccgtatc gtaaagtgra tcgtgaaaca ggtctggtca chaatgaaat 1860
cgtttggttg acagcggang aagaagatga atttattgta gcgcaagcaa attctaaatt 1920
aacagaagat ggtcgttttg cagaagcgat tgtcatggga cgtcaccaag ggaacaacca 1980
agaatttcct tcagatcarg trgatttcat ggatgtgtcg cctaagcagg tagttgccgt 2040
tgcgacagca tgtantccnk ttccytgaaa aygnacgact caarccntgn tstcatgggt 2100
gccaacatgc aacgtcaagc sgtaccgttg attgatccgc atgcaccata ygywggatana 2160
tggtatggaa taccaagcag antsaygamt ctggtgcggc tgattantgc mcaacacgac 2220
ggtaaagttg tmtattytga tgcagccaaa gttgaagttc gtcgtgaaga tggctcactt 2280

gtatgtntat catagntgac gaaattccgc cgttnaaact gstggtacgt tgmttacaac 2340
acaacgtagc ggstggtaaa agattggcga tacagntgta aaaagggtgta stttatcgca 2400
gacggacctt ctatggaaaa aggtgaaatg gcrcttggac aaaayccaat cgttgcttat 2460
atgacatggg aaggttaciaa ctttgaagat gccgttatca tgagtgagcg httagtgaaa 2520
gacgatgttt acacatctgt tcacttggag gaattcgaat cagaaacacg tgatacwaag 2580
cttaggmcct gaagaaatca ckcgcgaaat tccaaacgty ggtgaagatg ccnttygasa 2640
gaccttggac gaaaygggra ttataccgya ttggtgcyga rgttaaagag ggcgacattc 2700
ttgttggtaa agtcacacca aaagggtgaaa aagatctttc tgctgaagag cgtctcttgc 2760
acgcaatctt cggtgacaag tcacgtgaag tacgtgatac ytcycttcgt gtaccwcayg 2820
gtgsygcattg gkgyygytycg tgatgtgaaa atcttwactc gtgcsaacgg tgatgaattg 2880
caatcwgggtg tcaacatggt ggtacgtgtt wcacntcgct caaaaacgka araycamgtg 2940
tyggrgataa gatggcyggw cgtcacggaa acaaaggggt tgtttcccgcc attgttccag 3000
ttgaggatat gccgtatctt ccagatggaa caccagttga tattatgttg aaccacttg 3060
gggtgccatc tcgtatgaat attggtcaag ttatggagct tcacctcggt atgggtgctc 3120
gcaaccttgg cattcacatt gcaacaccag tatttgacgg ggctagctca gatgatcttt 3180
gggaaaccgt tcgtgaagct ggcattggata gcgatgctaa gacaatcctt tatgatggcc 3240
gtactgggtga gccatttgat aatcgtgtat ccgttgggtg catgtacatg atcaaactcc 3300
accatatggt tgatgataag ctccatgccc gttccgttgg tccttattca accgttacgc 3360
aacaacctct tgggtggtaaa gcgcagtttg gtggacaacg ttttggagaa atggaagt 3420
gggtcttga agcctacggt gcttctaacg tccttcaaga aatcttgact tacaagtcag 3480
atgacatcaa tggtcgtttg agagcttatg aagccattac caaaggtaag ccaattccaa 3540
aaccaggtgt tccagaatcc ttccgtgtcc ttgtaaaaga attgcaatca cttgggtcttg 3600
acatgcgtgt cttgatgaa gacgacaatg aagtcgaact tcgtgacttg gacgaaggca 3660
tgatgatga tgtgattcat gtagacgac ttgaaaaagc acgtgaaaaa gcagcacaag 3720
aagcaaaagc cgcttttgat gctgaaggga aagaataaga actgattcaa tagataataa 3780
agaaaggtaa gaaatagtgg ttgatgtaaa tcgttttcaa agtatgcaa tcaccctagc 3840
ttctcctagt aaagtccgct cttggtctta tggagaagtg aagaaacctg aaacaattaa 3900
ctaccgcaca ctaaaaccag aacgcgaagg gctttttgat gaagtcactt ttggctctac 3960
gaaagactgg gaatgtgcgt gtggaaaata taaacggatt cgttataaag gaatcatttg 4020

tgaccgttgt ggtgttgaag taactcgtac taaagttcgt cgtgaacgta tgggacatat 4080
tgagttgaaa gccccagtcct cctcatatctt ggtatctttaa aggaattcca antcgcacatgg 4140
gcntgacctt ggacatgagc cctcgtgctc ttgaagaagt catntanttt gcagcttatg 4200
tgggtgantga ccctaaagat acnccacttg agcacaaatc cattatgaca gagcgggatg 4260
gttngtgaac gctgacntga atatggccaa ggctcttttg ttgcaaaaat gggtygtgaa 4320
gcaatccaag atctnntgaa acangtagac ntggaaaaag aaattgcaga gctcaaagat 4380
gaattaaaaa cggcaagtgg gcaaaagcgc gtaaamgcta anttcgtcgn tnnactctt 4440
ttcgatnctt tccaaaaatc atggtacaca aaaccagaac tggatggtct taaaccatcn 4500
ntntcacgcg tcattccaga cac 4523

<210> 2
<211> 4118
<212> DNA
<213> Streptococcus equinus

<400> 2
cacgcgtggg cgacggcccg ggctgggtgaa ttgtcataag ttgtgtagta gtaaattccc 60
ttatcagtggt tgatgcatga gctataaata gtgtactcat atttgccact ttcacgaca 120
tagcaaagtc ctttttgttg ttcaacggat tttaaaatgt ggaagaattg attaactctg 180
ctttcttctg tttcttcagc cacagaattt aattttgtaa aagtaacttt tacataacgt 240
gacattgatg ataaatcacc aggcaagcca agtcaccca tgccacggct ataagtttca 300
agtttctaact ctttagcaaa acgattttct gaaacctttg gagatagatg acgatagtta 360
ttcaaattga ataattgttt atcaaaagtt ggattattag tcaaaacacc tgttgagtta 420
ttcgtaaact tatagggcac gcgtggctga cggcccgggc tggtaaagac ttcttgata 480
acggattaam agaagttttt gaagatgtac ttccgattac aaactttacg gatactatgg 540
agcttgaatt tgttggttac gaattgaaag agcctaagta tacgcttgaa gaagctcgta 600
tccacgatgc atcttattca gcacctattt ttgtaacctt ccgtttgatt aataaagaaa 660
caggagaaat caaaactcaa gaagttttct tcggtgattt cccaattatg actgaaatgg 720
gtacattcat catcaacggt ggtgaacgta ttatcgtttc tcagttgggt cgttctcctg 780
gtgtttatct caacgataaa gttgataaaa acggtaaagt tggttacggt tcaactgtaa 840
tccctaaccg tggagcatgg cttgaattag aaacagattc aaaagatatt gcttacacac 900
gtatcgaccg tacacgtaaa attccattta caactcttgt acgtgcgctt ggtttctcag 960

gtgatgatga aatcatggat atctttggtg atagcgaact tggtcgtaac acaatcgaaa 1020
aagatattca caaaaaccca gcagactcac gtactgacga agctcttaaa gaaatttacg 1080
aacgccttcg tccaggtgaa ccaaaaacag ctgatatgctc acgtagcttg cttgtagctc 1140
gtttctttga cccacgtcgt tatgacttgg cagctggttg tcgttacaaa atcaacaaaa 1200
aacttaacat caagactcgt cttttgaacc aaacaatcgc tgaaaacttg gttgatgctg 1260
aaactggtga aatccttggt gaagctggta cagtaatgac acgtgacgtg attgattcaa 1320
tcgctgatca attggatggt gaccttaaca aatttgttta cacaccaa atgattacgtg 1380
ttgtcactga acctgttggt cttcaaaaat tcaaagttgt tgcaccaa acgatccagacc 1440
gcgttggttac aatcggtggt aacgcaaata ctgatgacaa agcgcgtgcg cttacaccag 1500
ctgatatctt ggcagaaatg tcttacttcc ttaaccttgc tgaaggctta ggtaaagttg 1560
atgatatcga ccaccttggg aatcgctcgt ttcgtgccgt tggatgaattg cttgctaacc 1620
aattccgtat tggctctgct cgtatggaac gtaacgttcg ggaacgtatg tcagttcaag 1680
acaacgaagt gttgacacca caacaaatca tcaacattcg tcctgttact gcagccgtta 1740
aagaattctt cgggttcatt caattgtcac agttcatgga ccaacacaac ccactttctg 1800
agttgtctca caaacgtcgt ttgtcagcct taggacctgg tggtttgact cgtgacctg 1860
ctggttatga agttcgtgac gtgcactaca ctactatgg tcgtatgtgt ccgattgaaa 1920
ctcctgaagg acctaacatc ggtttgatca ataacttgtc aacatacga caccttaata 1980
aatatggttt catccaaaca ccatatcgta aagttgaccg cgctacaggt gtgattacaa 2040
acgaaatcgt ttggttgact gccgatgaag aagatgaata cacagtagca caggctaact 2100
caaaacttaa cgaagatgga acatttgctg aagacatcgt tatgggacgt caccaaggta 2160
ataaccaaga gttcccagca agcgttggtg acttcgtaga cgtttcacct aaacaagtag 2220
ttgccgttgc gacagcatgt attcctttcc ttgaaaacga tgactctaac cgtgccctta 2280
tgggtgccaa catgcaacgt caagcgggtg cattgattga tccacacgca ccatatggtg 2340
gtactggtat ggaatatcaa gcagcccacg actcaggtgc tgcagttatc gctaaacacg 2400
atggacgcgt tatcttctct gatgctgaaa aagttgaagt tcgtcgcgaa gatgggtcac 2460
ttgatgttta ccacattact aaattccgtc gttctaactc aggtacagct tataaccaac 2520
atacacttgt taaagttggc gatatcggtg aaaaagggtga cttcatcgct gatggctcct 2580
caatggaaaa aggtgaaatg gcccttggtc aaaacccaat cgtcgcttac atgacktggtg 2640
aaggttacaa cttcaggat gcggttatca tgtctgaacg ctttgtgaaa gatgatgtct 2700

atacatctgt tcacttggaa gaatacgaat cagaaacacg tgataactaag ttaggccctg 2760
 aagaaatcac tcgcgaaatt ccaaacgttg gtgaagatgc ccttcgcaac ttggacgaaa 2820
 tggggattat ccgtattggg gccgaagtta aagagggcga cattcttggt ggtaaagtca 2880
 cacaaaaagg tgaaaaagat ctttctgctg aagagcgtct cttgcacgca atcttcggtg 2940
 acaagtcacg tgaagtacgt gatacctctc ttcgtgtacc tcacggtgcc gatggtgtcg 3000
 ttcgtgatgt gaaaatcttt actcgtgcca acggtgatga attgcaatca ggtgttaaca 3060
 tgttggttcg tgtttcacat cgctcaaaaa cgtaagatca aggtcggaga taagatggcc 3120
 ggtcgtccac ggtaacaagg gtgtcgtttc acgtaywgt cctggtgagg atatgccata 3180
 tcttccagat ggaacaccag ytgacawcat gttgaacca ctsggggtgc catcwcgtat 3240
 gaacatcgga caagttatgg agcttcacct tggatatggc gtcgtaacc ttggtattca 3300
 cattgcaaca ccagtctttg atggggcaac ttctgaagac ctttgggata cagttaacga 3360
 agctggtatg gctagcgacg ctaagacagt tctttacgat ggacgtactg gtgaaccatt 3420
 tgataaccgt gtgtcagttg gtgtcatgta catgattaaa cttcaccaca tggttgatga 3480
 taaacttcac gcacgttcag ttggtcctta ctcaattgtt acgcaacaac ctcttggtgg 3540
 taaagcaciaa tttggtggac aacgtttcgg tgaaatggaa gtttgggctt tggaaagtta 3600
 cgggtcatca aatgttcttc aagaaatctt gacttacaaa tcagatgatg tcaacggtcg 3660
 tcttaaagct tatgaagcca tactaaagg taaaccaatt ccaaaaccag gtgttccaga 3720
 atcattccga gttcttgtaa aagaattgca atcacttggc cttgacatgc gcgtgcttga 3780
 tgaagatgac aatgaagtag aacttcgtga tcttgatgaa ggtgaagatg acgatgttat 3840
 gcacgttgat gatcttgaaa aagctcgtca aaaacaagaa gcagaagaag cggaaaaagc 3900
 agaagtttct gcagaagaaa acaataata ggaaagaaca ttcagacatg agagaggcaa 3960
 gacctgcttc tcttggtcag attgtttgat tgagtcctat aacgataaat gatgtcttac 4020
 gaatcatgaa tttgtaagtc atgacagtta gaaagtagcg cagctatttc aaagtcataa 4080
 gaaggatatca tggtgacgta atcggttacag ccggcgctc 4118

<210> 3

<211> 3425

<212> DNA

<213> Abiotrophia defectiva

<400> 3

atatagggca cgcgtggctg acggcccggg ctggctcctaa acaacatgta acgtcactcc 60
 gatgagttgg ttctgttgct ttttttttgc gcttcaaaga ccgaaaaatg tcatttgtca 120

acaattatta ataattgtaa ccttaatgta aagtgggtgtt cttagattat attatagggg 180
tgaatcgctt gagtcatatc gtgaaatacg gtaaaaaagc tgagcgtcga agctatgcgc 240
gtatcgacga agtcttagag ttgccgaact tgattgaaat ccaaacggat tcctacaaat 300
ggttcttgga tgaagggcta aaagtgatgt tcgaggacat ttcgccgatt gtcgaccatt 360
cggagaactt ggaacttcac tttgtagact atgagttcaa ggaagctaag tatagcttag 420
aagaagctcg tagccatgac gctaactact caaaaccaat ctatgtaacc ttgcgcctgt 480
tcaacaaaga gacaggtgaa gtcaaagaac aagaagtctt cttcggggac ttcccaatca 540
tgaccgaaat ggggaccttc attatcaacg gggcggaacg gggtatcggt tcccagttgg 600
tacgttctcc aggtgtctac ttccacgacc gtatggacaa gaaaggccgc cacagctata 660
cttctacggt tattcctaac cgtggggctt gggttgaatt tgaatcagat gctaagggga 720
ttgcctacgt ccgcattgac cggaccogga agattccatt gactgtcttg atgcgtgcct 780
taggttttgg ttcagatgac gagatttatg atatcttcgg ccaatctgag ctcttagact 840
taactatcga gaaggatgtt cacaaaaaca ttcaagactc tcgtacggaa gaagccttga 900
aggacattta cgagcgtctc cgtccaggtg aacctaagac cgcagaaagc tcacgtaacc 960
tcttggttgc gcgcttcttc gaccacgctc gctatgactt agcacctgta ggtcgttata 1020
agatcaataa aaagctccac ctcaagaacc gtttggttgg cttgactttg gctgaaacct 1080
tggttaaccc agaaacaggc gaagtgtctt ttgaagaagg aacggtcttg gatcaagaac 1140
gtgttcaagc cctgattcca tacttagagg ctggcttgaa taaggtaacc ctctatcctt 1200
ctgaagatag tgtggtagct caaccaattg atttacaat catcaaagtt tattcaccta 1260
agaacgccga gcaagtgatt aacatcatcg gtaacgggaa cattgagaag attaagtgt 1320
tgacgccagc tgacattatt gcgtcaatga actactatct ctatttagac caaggaattg 1380
gtgtgacaga tgatatcgac cacttggcta accgctgtat tcgttcagtc ggtgaattat 1440
tgcaaaaacca attccgtatc gggctatccc ggatggaacg ggtagtgcgt gaacgtatgt 1500
cgctccaaga tggtgcgacc atcacaccgc aacaattgat taacattcgt ccagtagtgg 1560
cggctattaa ggaattcttc ggttcatccc agttgtcaca attcatggac caagttaacc 1620
cactcgggga attgaccac aaacgtcgtc tgtcagcctt agggcctggg ggtttgacgc 1680
gggaccgtgc cggctatgaa gtgcgggacg ttactactc tcactacggc cgtatgtgtc 1740
caatcgagac gccagaaggt cctaacatcg gggtgattaa cagcttgtct tcttatgcca 1800
agattaacaa gtatggtttt attgagacgc cttaccgtaa agtggacaaa tcggttacgc 1860

cacacogtgt caccgaccgaa attgactacc tagcagcgga cgaggaagac ttgtacgtag 1920
tagcccaagc caactctaaa ctcaacgaag acgggacctt cgccaatgac ctagttatgg 1980
cgcgtttccg ttcacaaaac attgagggtta acgttgacca agtagactac atggacgtat 2040
cgccaaaaca ggttgtcgct gtcgcgactg ctagcattcc gttcttggaa aacgacgact 2100
ccaaccgggg cttgatgggt gccaacatgc aacgtcaagc tgtgccactt attaatccac 2160
aatccccact gattggggact gggatggaat ataaggcagc acacgactct ggggctgcgc 2220
tcttatgtaa gcgcgccggt gaagtgggtt atgtcgatgc taacaagggtg cgcgtgcgca 2280
ctccagaagg tgaagttgac gaataccgtt taaccaagtt tgcacgttct aacgctggga 2340
cctgttacia ccaacgtcca atcgtagaat taggcgacca agttgatgcc ttggaaatct 2400
tagcagatgg tccatctatg caaaatgggg agatggccct cgggtcaaac ccactggtag 2460
ccttcatgac ttgggaaggg tataactatg aggacgcggt tatcatgtct gaacgtctgg 2520
tcaaagacga tgtttatacc tctatccaca ttgaagaata tgaatcagag tcccgtyaya 2580
cyaagttagg ccctgaagaa attacacgcg aaattccaaa cgtgtccgaa gatgccctca 2640
agtacttaga caaagacggg attatctgta tcggggcgga agtaaaagac ggcgatatct 2700
tagttggtaa ggtaacacca aaagggtgtga ccgagttgtc tgccggaagaa cgcttgctcc 2760
atgctatctt cggtgagaag gcgcgtgaag tacgtgatac ttccttgctg gtgccacacg 2820
gcgggggchg gattgtccac gacgttaaaa tctttacccg cgaagctggc gacgaattgg 2880
caccaggtgt caacaagcta gtccgcgtct acatcgtaaa aaaacgtaaa atcaatgaag 2940
gggataagat ggccggtcgt caccgtaaca aaggggttgt ctccttatac atgccggaag 3000
aagatatgcc attcttacca gatggtaccc cagttgatat catgttgaac ccattagggg 3060
ttccatcccc tatgaacatc gggcaagtcc tagagttaca cttggggatg gctgctcgcg 3120
aaatgggcat caagattgca acacctgtct ttgacggtgc tagtgaagaa gatgtctggg 3180
aaacagttaa ggaagccggc ttagaagctg acgctaagac tatcttatac gatggtcgaa 3240
ccggtgaacc atttgaccgt aaagtctctg ttgggggttat gtacatgatt aagttggccc 3300
acatggtcga tgacaagttg caccgccgtt caacaggtcc atactctctg gttacccaac 3360
aaccattggg tggtaaagct caatttggtg ggcaacgttt cggggagatg gaggtttggg 3420
cccta 3425

<210> 4

<211> 3198

<212> DNA

<213> Streptococcus mutans

<220>

<221> misc_feature

<222> (619)..(3193)

<223> n représente a, t, c, g ou i

<400> 4

```
ggaccctttt atgacttctt ggatacaggt ctgaaggaag tttttgaaga tgtgcttcca      60
atttccaatt tcacagacac tatggaatta gagtttgtgg gttatgagtt gaaagagcct      120
aagtatacat tggaagaagc acgtgctcat gatgcacatt attctgcccc catcttttgtt      180
actttccgtc tcatcaataa agaaactggg gaaattaaga cacaagaagt attttttgggt      240
gattttccct tgatgactga aatgggtact tttattatta atgggtgctga acgtattatc      300
gtttctcagt tgggtacgttc accaggtgtt tattttaatg ataaagtggg taaaaatggg      360
aaaattggct atgggtcaac tgttatccct aaccgcgggtg cttggcctga gcttgaaacg      420
gactctaagg atattgctta tactcgtatt gatcgtactc gtaaaattcc ttttacgacg      480
ctgggtcgtg cactcggttt ttccggggat gatgagatta ttgatatttt tgggtgatagc      540
gaattgggtc gtaataccat tgaaaaagat atccataaaa atcctaataa ctctcgtaca      600
gatgaagctc tcaaggaant tatgaacgtc ttcgtccggg tgaacctaaa acggcagatt      660
cntcacgcag tcttctgatt gcacgtttct ttgatgcgcg ccgttatgat tagcagctgt      720
tggccgctat agataataag aagttaaacg tcaaacggg tctttgaatc aagtcattgg      780
ctgaaaanna gtagatctga aacaggcgaa attcttggtg aaagctggga ctgaaatgac      840
acgcagtgta attgattcga ttgcagatta tcttgatgga gatctcaata aaattgttta      900
tacgccaaat gaatacgtg ttttgacaga acctgttggt cttcaaaaat tcaaagttat      960
ggctccaaat gatccagacc gcacgggtac tgttattggg aatgccagtc caagatgaca     1020
aagtacgtca cttgacacca gccgatacgt attagctgaa atgtcttatt tccttaactt     1080
ggctgagggg ntaggtaaag ttgatgatat tgaccattta ggcaaccgac gtattcgtgc     1140
tgttggtgaa ttgcttgcta atcaatttcg tattggtttg gcacgtatgg aacgcaatgt     1200
tcgtgaacgc atgtccgttc aagataatga agtcctaacg ccacaacaga ttattaacat     1260
tcgccctgta acagcggcaa ttaaagagtt ttttggttct tctcaattgt cacagttcat     1320
ggaccaacac aatccactgt ctgaattgtc tcataaacgc cgtttgtcag ctttaggtcc     1380
tggtgggtta acacgcgacc gtgctgggta tgaagtccgt gatgtgcact atacgcatta     1440
```

tggtcgtatg tgtccaattg aaacgcctga aggaccaaatt attggattga ttaataactt	1500
gtcttcctat ggtcatctta ataaatatgg atttatccaa acaccatacc gtaaagttga	1560
ccgtgagaca ggtaaagtaa ccaatgaaat cgaatggctt actgctgatg aagaagatga	1620
attcactgta gctcaggcta actcaaaact caatgaagat ggaagctttg ctgaagaaat	1680
cgtcatggga cgtcatcaag ggaataacca agagtttcca gcaagttctg ttgaatatat	1740
ggatgtttct cctaagcagg tagttgcggt agcgacagca tgtattcctt tccttgaaaa	1800
tgatgactcc aaccgtgccc ttatgggagc taacatgcag cgccaagctg tgccattgat	1860
tgatcctaaa gcaccttttg ttggaactgg tatggaatat caagcagccc atgattctgg	1920
agccgctatt atcgctcaac ataatgggaa agtggtttat tccgatgcag ataagattga	1980
agttcgccgt gaagatggct cactagatgt ttatcatgtt accaaattcc gtcgttctaa	2040
ctctggaact gcctacaatc aacgtactct tgttagggta ggcgatagtg ttgagaaggg	2100
ggactttatt gcagatggct cttctatgga aaagggtag atggctcttg gacaaaatcc	2160
agtggttgct tacatgactt gggaggggta caactttgaa gatgctgtta tcatgagcga	2220
gcgtcttgct aaggatgatg ttatatactt tgtccattta gaagaatttg aatctgaaac	2280
tcgtgataca aagcttggac ctgaagaaat tacgcgtgaa atcccaaattg ttggtgaaga	2340
tgccctgaaa gaccttgatg aaatgggaat tattcgcat gggtgctgagg ttaaagaagg	2400
tgatattcta gttggtaaag tgactcctaa aggagaaaaa gatctttctg cagaagaacg	2460
cctcttgcat gccatttttg gtgacaaatc acgtgaagtt cgtgatactt ctcttcgtgt	2520
acctcatggg ggcgacgggt ttgtttgtga tgtgaaaatc ttacacgtg ctaatggaga	2580
tgaacttcaa tcaggtgtta acatgctggg tcgtgtttat atcgctcaa aacgtaaaat	2640
caaggctcga gataagatgg ccggacgtca tggtaacaag ggtgctggtt cccgtattgt	2700
accagtggaa gatatgcat atcttcaga tggaaacact gttgatatca tgcttaatcc	2760
acttggggtg ccatcacgga tgaacattgg gcaagttatg gaactccatc ttggtatggc	2820
tgctcgtaat ttgggcattc atattgcaac gcctgtcttt gacggagcaa cttctgatga	2880
tctttgggaa acagtaaaag aagccggtat ggattctgat gctaaaactg ttctttatga	2940
tggtcgcaca ggggagccgt ttgataatcg tgtatcagtt ggtgttatgt atatgattaa	3000
acttcaccac atggttgatg ayaaccattt tgtctatgca magwtcagtt ggcccttakt	3060
caaygawtam tcagasgart tctgctwgg tgtaaaggct ncaattgtct ttagagggtta	3120
aggctgggtga aataacggta tgctgggtatt gatggcaatg ggcaagtga tantcaacac	3180

cggccgtcta cancgtgc

3198

<210> 5

<211> 3096

<212> DNA

<213> *Enterococcus faecalis*

<400> 5

gacccttatac aattgggtttt tagatgaggg acttcgtgaa atgtttgaag acattttacc	60
aattgatgat ttccaaggaa acttatcctt agaatttggt gactatgaat taaaagaacc	120
aaagtacaca gtagaagaag cccgcgcaca tgatgccaac tattctgcgc cattacatgt	180
aacattacgt ttaaccaacc gtgaaacagg tgaaattaaa tccaagaag tcttcttcgg	240
cgatttccca ttaatgacag aaatgggtac cttcatcatc aacggggcag aacgtgttat	300
cgtttcccaa ttagttcggt ctccaggtgt ttacttccat ggaaaagtgg acaaaaacgg	360
caaagaaggt tttgggtcaa cagtcattcc taaccgtggt gcatgggttag aaatggaaac	420
agatgcgaaa gacatttctt atgttcggat tgaccgcaca cgtaaaattc ctttaactgt	480
gtagttcgt gctttagggt tcggttcaga tgataccatc ttcgaaattt tcggcgacag	540
cgaaagctta cgcaacacaa ttgaaaaaga ttacacaaa aacgcaagtg attctcgtac	600
agaagaaggc ttgaaagaca tttatgaacg tcttcgcccc ggccaaccaa aaacagcaga	660
tagctcacgt agcttggtta cttgcacgtt tctttgatcc aaaacgttat gatttggcaa	720
acgttggtcg ctacaaagtt aacaaaaaat tagacttaaa aacacgtcta ttaaaactta	780
ccttagctga aacgctagtt gatccagaaa ctggtgtaaa tcattgtcga aaaaggcaca	840
gttttaacac actacatcat ggaaacatta aggcrataca ttgacaaacg gcttaaacag	900
cgtaacttac tatccaagtg aagatgcggt agtaactgaa ccaatgacga tccaagtgat	960
tcaagttctt tcacaaaag atcctgaacg tatcgtaa atgtgattggta acggctatcc	1020
agacgacagc gtaaaaacag ttcggtccagc agatatcggt gcttcaatga gctacttctt	1080
caacttaatg gaagatatcg gtaatgtcga tgacatcgac cacttaggta atcgctcgtat	1140
ccgttcagta ggcgaattat tacaaaacca attccgtatt ggtttagccc gtatggaacg	1200
tgtgggtcgt gaaagaatgt ctattcaaga cacagaaaca ttgacaccac aacaattaat	1260
taacatccgt ccagtggtag caagtatcaa agaattcttt ggttcttcac agttatcaca	1320
gttcatggac caaacaacc cattagggtg gtttaacocat aaacgctcgtc tatcagcctt	1380
agggcctggt ggtttgactc gtgatcgtgc cggttatgaa gttcgtgacg ttcaactactc	1440
tcactatggt cgtatgtgtc caattgaaac gcctgagggga ccaaatatcg ggttgatcaa	1500

```

tagcttatct agttatgcga aagtgaataa atttgggttc atcgaaacgc cttatcgccg 1560
tgttgatcgt gcgacaggcc gtgttactga tcaagtagat tacttaacag cagacatcga 1620
agaccattat atcgtagcgc aagcgaactc acttttaaata gaagatggca catttgccaa 1680
tgatgttggt atggcgcgtc tacaaagtga aaacttagaa gttgccgtag acaaagttga 1740
ctacatggac gtttcaccaa aacaagtagt cgcagtcgca acagcatgta ttcttttctt 1800
agaaaacgat gactccaacc gtgccttgat ggggtgccaac atgcagcgtc aagcgggtgcc 1860
gttaattcaa ccacgctctc cgtgggtagg tacaggtatg gaataataat cagcccatga 1920
ctcaggtgct gctttactat gtaaactatga cgggtgcgta gaattcgtcg atgcaaaaga 1980
aattcgcgtt cgtcgcgaca atggcgcat agacaaatat atggttacaa aattccgtcg 2040
ttctaactca ggaacaagct acaaccaacg cccaattggt cacttaggtg aaaagttgaa 2100
aaggcgatac ttaccggat ggaccttcta tggaagaagc gaaatggctt tatggcaaaa 2160
cgtcttagtt gccttcatga catgggaagg ttacaactac gaggatgcca ttatcatgag 2220
ccgtcgttta gttaaagacg atgtctacac ttctgtgcat attgaagaat atgaatcaga 2280
agcacgtgat acaaaattag gacctgaaga aattacccgt gaaattccaa acgttgggga 2340
agacgcgttg aaagacttag acgaaatggg gattatccgc attggtgctg aagttcaaga 2400
tggcgactta ctagttggga aagtcacacc taaaggggtc acagaattat ctgcagaaga 2460
acgtttatta cacgcaatct tcggggaaaa agcccgcgaa gttcgtgata cgtctctccg 2520
tgtacctcac ggtggcggcg gtatcgttca tgatgtgaaa atctttactc gtgaagctgg 2580
cgatgaatta tcaccaggtg tcaacatggt agttcgtgtc tatatcggtc aaaaacgtaa 2640
aattcacgaa ggagataaaa tggcgggacg tcacggaaat aaaggggttg tttcccgat 2700
tatgccggaa gaagatatgc cattcttacc tgacggaaca cctgttgata tcatgttgaa 2760
cccattaggg gtaccttctc gtatgaatat cggacaagta cttgaattac acttaggtat 2820
ggctgctcgc caattaggta ttcacgtcgc aacacctgtt ttcatggggg caaccgatga 2880
agacgtttgg gaaactgttc gtgaagctgg tatggctagc gatgctaaaa cagttcttta 2940
cgatggacgt acaggtgaac catttgataa ccgtatttcc gttggtgtca tgtatatgat 3000
taaattagcc cacatggttg atgacaaatt gcatgctcgt tcaatcggac cttactctct 3060
tgttacgcaa caaccgttgg gtgtaaagct caattc 3096

```

<210> 6

<211> 20

<212> DNA
<213> amorce

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> n représente a, t, c ou g ou i

<400> 6
aarytnggmc ctgaagaaat

20

<210> 7
<211> 23
<212> DNA
<213> amorce

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> n représente i

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> n représente a, t, c ou g ou i

<400> 7
tgnarttttrt catcaaccat gtg

23

<210> 8
<211> 709
<212> DNA
<213> Streptococcus suis

<400> 8
cgcgaaattc caaacgttgg tgaagatgcc cttcgcaact tggacgaaat ggggattatc 60
cgtattgggtg ccgaagttaa agagggcgac attcttgttg gtaaagtcac accaaaaggt 120
gaaaaagatc tttctgctga agagcgtctc ttgcacgcaa tcttcggtga caagtcacgt 180
gaagtacgtg atacctctct tcgtgtacct cacgggtgccg atgggtgtcgt tcgtgatgtg 240
aaaatcttta ctctgtccaa cggatgatgaa ttgcaatcag gtgttaacat gttggttcgt 300
gtttacatcg ctcaaaaacg taagatcaag gtcggagata agatggccgg tcgtcacggg 360
aacaaggggtg tcgtttcacg tattgtacct gttgaggata tgccatatct tccagatgga 420
acaccagttg acatcatgtt gaaccactc ggggtgccat cacgtatgaa catcggtcag 480
gttatggaac ttcacttggg tatggcggct cgcaacttgg gcatccatat cgcaacacca 540

gttttcgatg gtgcaagttc agaagacctc tgggtcaactg ttaaagaagc aggtatggac 600
 tcagatgccca agaccattct ttacgatgga cgtacagggtg aaccatttga caaccgtgta 660
 tctgttggtg tcatgtacat gatcaagctt caccacatgg ttgatgaca 709

<210> 9
 <211> 725
 <212> DNA
 <213> *Streptococcus sanguinis*

<400> 9
 tgtcatcaac catgtggtga gcttaatcat gtacatgaca cgcacagata cacggttgtc 60
 aaacggctca cgggtacgtc catcgtaaag aatagtcttg gcatcgctat ccataccagc 120
 ttacaggaca gtatcccaga ggtcttctga gcttgctcca tcaaagaccg gtgtcgcaat 180
 atggatgcc cagttacgtg ctgccatacc aagggtgaagc tccataacct gaccaatgtt 240
 catacgtgat ggtaccccga gtgggttcag catgatatca actggtgttc cgtctggcaa 300
 ataaggcatg tcttccacag gaacgatacg ggatacaacc cccttgtttc cgtgacgacc 360
 agccatctta tctccgacct tgatcttacg tttttgagcg atgtagacac gaaccaacat 420
 attaacgccca gattgcaact catcaccatt agcacgggta aagatcttca cgtcacgaac 480
 cactccatca gcaccgtgcg gcacacgcag agaggatatca cggacttcac gagacttgtc 540
 tccgaagata gcgtgcaaga ggcgctcttc agcagaaaga tctttttcac ccttaggggt 600
 aactttacct acaaggatat cgccttcctt gacttccgcc ccgatgcgga taatacccat 660
 ttcttcaaaa ttgcgtaggg catcttcccc tacgtttgga atttcgcggg taattcttca 720
 ggtca 725

<210> 10
 <211> 728
 <212> DNA
 <213> *Streptococcus salivarius*

<400> 10
 ttgtcatcaa ccatgtgtga agtttgatca tgtacatgac accaactgat acacggttat 60
 caaatgggtc acctgtacgt ccatcgtaaa ggattgtctt agcatcacta tccataacctg 120
 cttcacgaac agtatcccag aggtcttctg agcttgcccc gtcaaagact ggtgttgcca 180
 tgtggatacc caagttacga gcagccatac caagggtgaag ttccataacc tgaccgatgt 240
 tcatacgtga tggcacccca agagggttca acatgatatc aactgggtgta ccgtctggaa 300
 ggtaaggcat gtcttcaaca ggaacaatac gagaaacaac ccctttgtta ccgtgacgac 360

cggccatctt atctccgacc ttaatcttac gtttttgagc gatgtaaaca cgaacaagca 420
 tgtaacacc tgattgcaat tcatcaccgt ttgcacgtgt gaagatttta acatcacgaa 480
 cgacaccatc accaccgtga ggtacacgga gtgaggtatc acgtacttca cgagatttat 540
 caccaaagat agcatggaga agacgttctt cagcagaaag gtctttttca cccttaggtg 600
 ttaccttacc aacaagaatg tcaccttctt taacctcagc accgatacgg ataataccca 660
 tttcgtcaag gtctttgaga gcttcttcac caacgtttgg caattcacgt gtaatttctt 720
 caggtcca 728

<210> 11
 <211> 725
 <212> DNA
 <213> Streptococcus pyogenes

<400> 11
 tgtcatcaac catgtggtga agtttgatca tatacatgac accaacggat acacggttgt 60
 caaatgggtc accggtgcga ccatcataaa ggaccgtctt agcatcgcta tccataccag 120
 cttcacgaac agtgtccaa aggtcttctg atgaagcccc gtcaaagaca ggtgttgcaa 180
 tgtgaatacc aagattacga gcagccatac caagggtgaag ttccataacc tgaccaatat 240
 tcatccgtga tggcacccca agagggttca acatgatgtc aactggtgtt ccgtctggaa 300
 ggtatggcat gtcttcaact ggtacaatac gtgaaacgac acccttgttt ccgtgacgac 360
 cggccatttt atctccgacc ttgattttac gtttttgagc gatgtaaaca cgcacaagca 420
 tattaacacc tgattgcaat tcatcgccgt tagcgcggtgt aaagattttc acatcacgaa 480
 cgataccatc accaccgtga gggacacgaa gtgaggtatc acgcacttca cgcgatttat 540
 ccccaaagat ggcgtgaagt aaacgttctt cagcagaaag gtctttttca ccttttaggtg 600
 tgactttacc tactaagatg tcgccttctt taacctcagc accgatacgg ataatgccca 660
 tttcgtcaag gtctttgagg gcttcttcac caacatttgg gatttccgag tgattcttca 720
 gggca 725

<210> 12
 <211> 724
 <212> DNA
 <213> Streptococcus pneumoniae

<400> 12
 caaccatgtg gtggagtttg atcatgtaca tgactccgac agaaaacacg gttatcaaac 60
 gggtcaccag tacgtccatc gtaaaggatc gttttggcat cgctatccat acctgcttct 120

ttaacagttg accaaagatc ttcagaactt gctccatcaa agactgggtgt cgcgatgtga 180
ataccaagag tacgagctgc cataccaagg tgaagctcca taacctgacc gatattcata 240
cgtgatggta cccaagtgg gttcaacatg atgtcgactg gagttccgtc tggaaggtaa 300
ggcatgtctt ctacaggaac gatacgagag acaaccctt tgtttccgtg acgtccggcc 360
attttatctc cgaccttaat cttacgtttt tgagcgatgt aaacacgaac caacatgtta 420
acacctgatt gcaactcatc tccatttaca cgtgtaaaga tcttaacatc acgaacgaca 480
ccatcggcac cgtgtggtac acgaagagaa gtatcacgca cttcacgaga cttgtctcca 540
aagatagcgt gcaagagacg ttcttcagct gaaagatctt tctcaccctt aggtgttact 600
ttacctacaa gaatatcacc ttctttaacc tcagcaccaa tacggataat cccatttcgt 660
caagggtctt gagggcatct tcaccaacgt tttggaattt cgcgagtgat ttcttcaggt 720
ccaa 724

<210> 13
<211> 694
<212> DNA
<213> Streptococcus oralis

<400> 13
actcgtgaaa ttccaaacgt tgggtgaagat gcccttaaag accttgacga aatgggtatt 60
atccgtattg gtgctgaggt taaagaagga gatatccttg taggtaaagt cacacctaag 120
ggtgaaaaag acctttctgc tgaagaacgt ctcttgacag ctatcttcgg agacaagtct 180
cgtgaagtgc gtgatacttc tcttcgagta cctcacggtg ccgatgggtgt cgttcgtgat 240
gttaagatct ttacacgtgc aaatgggtgat gagttgcaat ctgggtgtgaa tatgctggtt 300
cgtgtctaca tcgctcaaaa acgtaagatc aagtcggaga taagatggcc ggacgtcacg 360
gaaacaaagg ggttgtctct cgtatcgttc ctgtagaaga catgccttac cttccagatg 420
gaactccagt cgatatcatg ttgaaccac ttggggtgcc atcacgtatg aatatcggtc 480
aggttatgga actccacctt ggtatggcag cccgtactct tggatatccac atcgcaacac 540
cagtctttga cggagcaagt tcggaagacc tttgggacac tgtaaagaa gcaggatatg 600
atagcgatgc caaaacaatc ctttacgatg gacgtacagg tgagccgttt gacaaccgtg 660
tatcagttgg tgtcatgtac atgatcaaac tcca 694

<210> 14
<211> 728
<212> DNA
<213> Streptococcus mutans

<400> 14
 tgtcatcaac catgtggtga agtttaataca tatacataac accaactgat acacgattat 60
 caaacggctc ccctgtgcga ccatcataaa gaacagtttt agcatcagaa tccataccgg 120
 cttctttttac tgtttcccaa agatcatcag aagttgctcc gtcaaagaca ggcgttgcaa 180
 tatgaatgcc caaattacga gcagccatac caagatggag ttccataact tgcccaatgt 240
 tcatccgtga tggcacccca agtggattaa gcatgatatac aacagggtgtt ccatctggaa 300
 gatatggcat atcttccact ggtacaatac gggaaacgac acccttggtta ccatgacgtc 360
 cggccatctt atctccgacc ttgatttttac gtttttgagc gatataaaca cgaaccagca 420
 tggttaacacc tgattgaagt tcatctccat tagcacgtgt aaagattttc acatcacaaa 480
 caacaccgtc gccaccatga ggtacacgaa gagaagtatac acgaacttca cgtgatttgt 540
 caccaaaaat ggcatacga agggcgttctt ctgcagaaaag atctttttct cctttaggag 600
 tcactttacc aactagaata tcaccttctt taacctcagc accaatgcga ataattccca 660
 tttcatcaag gtctttcagg gcatcttcac caacatttgg gatttcacgc gtaatttctt 720
 caggtcca 728

<210> 15
 <211> 730
 <212> DNA
 <213> Streptococcus mitis

<400> 15
 tgtcatcaac catgtggtgg agtttgatca tgtaacatga ctccgacaga aaacacgggtt 60
 atcaaagtgt tcacctgtac gtccatcgta aaggattggt ttggcatcgc tatccatacc 120
 agcttcttta acagttgacc aaagatcttc agaacttgct ccgtcaaaga ctggtgttgc 180
 gatgtgaata ccaagagtac gagctgccat cccaagggtg agttccataa cctgaccgat 240
 attcatacgt gatggcacc caagtgggtt caacatgata tcgactggag ttccatctgg 300
 aaggtaaggc atatcttcta caggaacgat acgagagaca acccctttat ttccgtgacg 360
 tccggccatc ttatctccga ccttgatctt acgtttttga gcgatgtaga cgcgaccag 420
 catgttgaca cctgattgca attcatctcc atttgcacgt gtaaagatct taacatcacg 480
 aaccacacca tcagctccgt gtggtacacg aagagaagtg tcacgtactt cacgagattt 540
 atctccgaag atagcgtgca agagccgttc ttcagctgaa aggtctttct cacccttagg 600
 tgttacttta cctacaagga tatccccttc tttaacctca gcaccgatac ggataatacc 660
 catttcgtca agatctttta gggcatcttc cccaacgttt gggatttcac gagtaatttc 720

ttcaggtcca . 730

<210> 16
<211> 697
<212> DNA
<213> Streptococcus equinus

<400> 16
cactcgcgaa attccaaacg ttggtgaaga agctcttaaa gaccttgacg aaatgggtat 60
tatccgtatc ggtgctgaag ttaaagaagg tgacatcctt gtaggtaaag taacacctaa 120
agggtgaaaaa gacctttctg ctgaagagcg ccttcttcac gcaatcttcg gtgataaatc 180
acgtgaagtt cgtgatacat cacttcgtgt accacacggt ggagatgggtg tcgttcgtga 240
cgtaaataatc ttacacgtg caaacggtga tgaattacaa tcaggtgta acatgctcgt 300
tcgtgtttat atcgacacaa aacgtaaaat caaagtcgga gataaaatgg ccggtcgtca 360
cggtaacaaa ggggttggtt ctcgtgttgt tccagttgaa gacatgcctt atcttccaga 420
cggaactcca gtcgatatca tgttgaaccc acttgggggtg ccatctcgta tgaacatcgg 480
acaagttatg gagcttcacc ttggtatggc tgctcgtaac cttggtatc acattgcaac 540
accagtcttt gatggggcaa cttctgaaga cctttgggat acagttaacg aagctgggat 600
ggctagcgac gctaagacag ttctttacga tggacgtact ggtgaaccat ttgataaccg 660
tgtgtcagtt ggtgtcatgt acatgattaa acttcac 697

<210> 17
<211> 731
<212> DNA
<213> Streptococcus constellatus

<400> 17
agttgtcatc aaccatgtgt gcaatttaat catatacatg acaccgacag atacacggtt 60
gtcaaacggc tcgcccgtac gaccatcata aagaatcgtc ttggcatcgc tatccatgcc 120
tgcttcacga acagtatccc aaagggtcatc tgagcttgct ccgtcaaata ctggcggtgc 180
tatgtggata ccaagggtgc gagcagecat accaagggtga agctccataa cctgtccgat 240
attcatacgt gatggcacc caagtgggtt caacatgatg tctactgggtg ttccgtctgg 300
aagataaggc atatcctcaa ctggaacgat acgggaaaca acccctttat ttccgtggcg 360
tccggccatc ttatcccaa cgggatctt tcgtttttga gcaatgtaaa cagcaccaa 420
catgttgaca ccagattgca attcatcacc gtctgcacga gtaaagattt tcacatcacg 480
gacaaccca gcaccacat gtggtacacg aagagatgtg tcacgtactt cagagattt 540

atcaccgaaa attgcatgaa gcaggcgttc ttcagcggat aagtcttttt cacctttcgg 600
 cgttacttta ccgacaagaa tgtcgccctc tttcacctca gcaccaatgc ggataattcc 660
 catttcgtca aggtctctta gcgcatcttc cccaacgttt ggaatttcgc gcgtaatttc 720
 ttcaggtcca a 731

<210> 18
 <211> 697
 <212> DNA
 <213> Streptococcus anginosus

<400> 18
 cacgcgcgaa attccaaacg tcggtgaaga tgctttgaga gaccttgacg aaacgggaat 60
 tatccgcatt ggtgctgagg taaaagaagg cgacattctt gtcggtaaag taacaccgaa 120
 aggtgaaaaa gacttatctg ctgaagaacg cctgcttcac gcaattttcg gtgataaatc 180
 tcgtgaagta cgtgatactt cccttcgtgt accacatggg ggtgcagggg ttgtccgtga 240
 tgtgaaaatc ttactcgtg cgaacgggtga tgaattgcaa tctgggtgtca acatgttggg 300
 acgtgtttac atcgctcaaa aacggaaaat ccgtgttggg gataagatgg ctggacgtca 360
 cggaacaaaa ggggttggtt cccgcattgt tccagttgag gatatgccgt atcttcaga 420
 tggaacacca gttgatatta tgttgaaccc acttgggggtg ccatctcgta tgaatattgg 480
 tcaagttatg gagcttcacc tcggtatggc tgctcgcaac cttggcattc acattgcaac 540
 accagtattt gacggggcta gctcagatga tctttgggaa accgttcgtg aagctggcat 600
 ggatagcgat gctaagacaa tcctttatga tggccgtact ggtgagccat ttgataatcg 660
 tgtatccgtt ggtgtcatgt acatgatcaa actccac 697

<210> 19
 <211> 728
 <212> DNA
 <213> Streptococcus dysgalactiae

<400> 19
 tgtcatcaac catgtggtgg agtttaatca tgtacatgac accaacggat acacggttgt 60
 caaatgggtc gccagtacgt ccatcataaa ggaccgtctt agcatcgcta tccataaccg 120
 cttcacgaac agtgtcccaa aggtcttctg atgaagcccc gtcaaagaca ggtgttgcaa 180
 tgtgaatacc aagattacga gcagccatac caagggtgaag ttccataacc tgaccaatgt 240
 tcatccgtga tggcaccaca agaggggttca acatgatgtc aactggtgtt ccatctggaa 300
 ggtatggcat gtcttcaact ggtacaatac gtgaaacgac acccttgttt ccgtgacgac 360

cagccatttt atctccgact ttgatctttac gtttttgagc aatgtaaaca cgcacaagca 420
 tattaacacc tgattgcaat tcatcgccgt tagcgcggtgt aaagattttc acatcacgaa 480
 cgataccatc accaccgtga ggtacacgaa gggacgtatc acgaacttca cgtgattttat 540
 ctccaaagat ggcatgcaag agacgctctt cagcagaaaag gtcttttttca ccttttaggtg 600
 tgactttacc tactaagatg tcgccttctt taacctcagc accgatacgg ataattccca 660
 tttcgtcaag gtctttgagc gcttcttcac caacgtttgg aatttcgcgg gtgatttctt 720
 caggtcaa 728

<210> 20
 <211> 728
 <212> DNA
 <213> Streptococcus bovis

<400> 20
 tgtcatcaac catgtggtga agtttgatca tgtacatgat accaacagag acacgattat 60
 caaatgggtc acctgtacga ccgtcataaa gaactgtctt agcgtcgcta tccataccag 120
 cttcacgaac agtatcccaa aggtcttctg aagttgcccc gtcaaagact ggagttgcaa 180
 tgtgaatacc gaggttacga gctgccatac caaggtgaag ttccataact tgtccgatat 240
 tcatacgaga tggcacccca agagggttca acatgatatc aactggagtt ccgtctggaa 300
 gatatggcat gtcttcaaca ggaacgatac gagaaacaac ccctttgttt ccgtgacgac 360
 cggccatttt atctccgact ttgattttac gtttttgatc aatgtaaaca cgaacgagca 420
 tgttgacacc tgattgcaat tcatcaccgt tagcacgtgt gaagatttta acatcacgaa 480
 caacaccgtc tccaccgtgt ggcacacgaa gtgatgtatc acgtacttca cgagattttat 540
 caccgaagat tgcgtgaaga aggcgttctt cagcagaaaag gtcttttttca ccttttaggtg 600
 ttactttacc tacaaggata tcaccttctt taacttcagc accgatacgg ataataccca 660
 tttcgtcaag gtctttaaga gcttcttcac caacgtttgg aatttcgcga gtgatttctt 720
 caggtcaa 728

<210> 21
 <211> 728
 <212> DNA
 <213> Streptococcus acidominimus

<400> 21
 ttgtcatcaa ccatgtggtg gagcttaatc atgtacatga caccaacaga cacacggtta 60
 tcaaattggtt caccagtacg accatcataa agaatcgttt tagcatcgct gtccattcct 120

gcctctttaa cagttgacca gagatcctct gagctcgac catcgaaaac cgggtgttgcg 180
 atatggatac ccaagttacg agcagccata cccaagtgca gttccataac ctgaccaata 240
 ttcatacgag atggcacccc aagtgggttc aacatgatgt caactggtgt tccatctgga 300
 agatatggca tgtcttcaac tggtaacaata cgagaaacga cacccttggt accgtgacga 360
 ccggccatct tatctccgac cttaatcttg cgtttttgag cgatatacac acgtaccagc 420
 atattaacac cagactgtag ctcatcacca ttagcacgcg taaagatttt cacatcacga 480
 acaacaccat ctgcaccgtg tggcacacgt agagaggtat cagctacttc acgtgatttg 540
 tcaccgaaga tagcatgcaa gagacgctcc tcagcagaaa gatctttttc accttttggt 600
 gtcaccttac caacaagaat atcgcttctt ttaacttctg caccgatacg gataataccc 660
 atttcgtcaa ggtctttgag ggcttcttca ccaacgtttg gaatttcacg agtaatttct 720
 tcagggtca 728

<210> 22

<211> 733

<212> DNA

<213> Streptococcus agalactiae

<400> 22

tgagttgtca tcaacatgt ggtgaagttt gatcatgtac atgacaccaa ctgacacacg 60
 gttatcgaat ggttcaccag tacgaccatc ataaagaaca gtcttagcat ctgaatccat 120
 acctgcttct tgaacagttt cccaaaggtc ttctgaagaa gccccatcaa agactggcgt 180
 tgcaatatga atacctaaat tacgagcagc catacctaaa tgaagctcca taacttgtcc 240
 gatattcata cgtgatggca cccaagtggt gttcaacatg atatcaactg gcgttccatc 300
 tggtaagtaa ggcatatctt caacaggaac aatacgtgag acgacacctt tgtttccgtg 360
 acgaccggcc atcttatcac cgactttgat ttacggtttt tgagcgatat aaacgcggac 420
 aagcatatta acacctgatt gcaattcatc accatttgca cgagtaaaga ttttaacgtc 480
 acgaactact ccatcgccac cgtgaggtag acgtagtga gtagcacgaa cttcacgtga 540
 tttatcacca aaaatggcat gcaagagacg ttcttcagca gataagtcct tttcaccctt 600
 aggtgttacc ttaccaacaa gaatgtcacc ttcttttacc tcagcaccaa tgccgataat 660
 tcccatttca tcgagatcac gtagtgaatc ttcaccaaca ttttggattt cagagtaat 720
 ttcttcaggt cca 733

<210> 23

<211> 714

<212> DNA

<213> *Streptococcus difficilis*

<400> 23

ttgtcatcaa ccatgtggtg aagtttgatc atgtacatga caccaactga cacacggtta	60
tcgaatgggt caccagtatg accatcataa agaacagtct tagcatctga atccatacct	120
gcttcttgaa cagtttccca aaggctcttct gaagaagccc catcaaagac tggcggttgca	180
atatgaatac ctaaattacg agcagccata cctaaatgaa gctccataac ttgtccgata	240
ttcatacgtg atggcacccc aagtgggttc aacatgatat caactggcgt tccatctggt	300
aaataaggca tatcttcaac aggaacaata cgtgagacga cacctttgtt tccgtgacga	360
cgggccatct tatcaccgac ttgtatttta cgtttttgag cgatataaac gcggacaagc	420
atattaacac ctgattgcaa ttcattacca ttgtcacgag taaagatttt aacgtcacga	480
actactccat cgccaccgtg aggtacacgt agtgaagtat cacgaacttc acgtgattta	540
tcacaaaaaa tggcatgcaa gagacgttct tcagcagata agtccttttc acccttaggc	600
gttaccttac caacaagaat gtcaccttct ttacctcag caccaatgcg gataattccc	660
atttcatcga gatcacgtag tgaatcttca ccaacatttg gaatttcacg agta	714

<210> 24

<211> 728

<212> DNA

<213> *Streptococcus intermedius*

<400> 24

tgtcatcaac catgtggtga agcttaatca tgtacatgac accaacggac acacggttat	60
caaacgggtc gccagtacgt ccatcataaa ggattgtctt agcatcgcta tccatacctg	120
cttcacgaac ggtttcccaa agatcatctg agctagctcc gtcaaagact ggcggttgcaa	180
tgtggatacc aagggtgcca gcagccatac cgaggtgcaa ttccataact tgtccgatat	240
tcatacgtga cggcacccca agaggattca acatgatata aactgggtgtc ccgtctggaa	300
gatacggcat atcctcaact ggaacaatgc gggaaacaac ccctttgttt ccgtggcgtc	360
cggccatctt atctccaacg cggattttcc gtttttgagc gatataaaca cgtaccaaca	420
tgttgacacc ggattgcaat tcatcaccgt tcgcacgagt aaagattttt acatcacgga	480
caacacctgc accaccgtgt ggtacacgaa gggaggtatc acgcacttca cgagacttat	540
cacaaaaaat tgcataagc aggcgttctt cagcggataa atctttttca cctttcggcg	600
ttactttaco gacaagaatg tcgccttctt ttacctcagc accaatgcgg ataattccca	660

tctcgtcaag gtctctcaaa gcatcttccc cgacgtttgg aatttcgcgc gtgatttctt 720
caggtcca 728

<210> 25
<211> 728
<212> DNA
<213> *Streptotococcus equi*

<400> 25
tgtcatcaac catgtggtga agcttaatca tatacatgac accaactgac acacgattat 60
caaacggctc accagtagcg ccatcataaa gaacagtctt agcatcgcta tccataacctg 120
cttcacgaac agtttcccaa aggtcctcag acgtagctcc gtcaaagacc ggtgttgcca 180
tatggatacc caaattacga gcagccatac ctaggtgaag ctccataacc tgtccaatgt 240
tcatacgaga cggcacccca agagggttca gcatgatgtc aacaggggtt cgtctggca 300
gatatggcat atcctcaacc ggtacaatac gtgagacgac acccttgta ccatgacgcc 360
cggccatttt atctccgacc ttgattttac gcttttgagc aatgtaaaca cgcaccagca 420
tattaacacc tgattgaagc tcatcaccat ttgcgcgtgt aaagatcttc acatcacgta 480
caatcccgtc accaccatga ggaacacgta acgaggtatc acgaacctca cgtgatttat 540
caccaaagat agcatgcagg agacgttctt cagcagaaag gtctttttca cccttaggag 600
ttaccttacc aacaagaata tcgccttctt tgacctctgc accgatacgg ataataccca 660
tttcatcaag gtccttgagg gcttcttcac caacgtttgg cacttcacgt gtgatttctt 720
caggtcca 728

<210> 26
<211> 697
<212> DNA
<213> *Enterococcus gallinarum*

<400> 26
cactcgtgaa atcccgaatg tcggggaaga cgcattgaaa gatctagacg aaatgggtat 60
catccgcatt ggtgcggaag tcaaagatgg cgatctgttg gttggtaaag taacgcctaa 120
aggggtaacg gaactatctg cagaagaacg cttgcttcat gcaatctttg gtgaaaaagc 180
ccgcgaagtc cgcgatactt ctctgcgcgt acctcacggt ggtggcggaa tcgtccatga 240
tgtgaaaatc tttaccgcg aagctggcga tgaattgtca ccaggtgtca atatgctcgt 300
tcgcgtgtat atcgttcaaa aacggaaaat ccatgaaggg gataaaatgg ccggccgtca 360
cggaataaaa ggggtcgttt ctgcattat gccagaagaa gacatgcctt tcttaccaga 420

cggtacacca gttgatatca tgttgaaccc attaggggtg ccttcacgga tgaacattgg 480
acaagtattg gaattacact taggaatggc tgcccgccaa ttaggaatcc acgtggctac 540
accagtcttt gatggtgcca gcgatgaaga tgtctgggca acagttgcag aagccggcat 600
ggctagcgac gccaaaaccg ttttgtatga tggccgtact ggagaaccat ttgatggtcg 660
aatctccgta ggtgtcatgt atatgatcaa attggcc 697

<210> 27

<211> 727

<212> DNA

<213> *Enterococcus casseliflavus*

<400> 27

tgtcatcaac catgtgggcc aatttgatca tgtacatgac accaacggag atgcggccat 60
caaatggttc gccggtacgt ccgtcgtaaa gcactgtttt ggcatcgctg gccattcctg 120
cttcagcaac cgttgcccaa acatcttcat cgctggctcc atcaaagact ggtgttgcca 180
cgtgaatgcc taattgacgc gcagccattc ctaagtgtaa ctctaatact tgtccaatgt 240
tcatccgaga aggtaccctt aatgggttca gcatgatatc gactgggtgtg ccatctggta 300
agaaaggcat gtcttcttct ggcataatgc gagaaacgac ccctttgttt ccgtgacgtc 360
cggccatttt atccccttca tggattttcc gtttttgaac gatataaacg cgaaccagca 420
tgttcacacc tggtgacaat tcatcgccag cttcgcgggt aaagattttg acatcgtgga 480
cgattccgcc gccgccgtga ggcaecgcta gagaagtgtc acgcacttcg cgggcttttt 540
caccaaagat tgctgcaac aaacgctctt ctgctgaaag ttccgttacc ccttttggcg 600
tgactttccc aacaagcaga tcgccatott tgacttccgc accaatgcgg ataatgccc 660
tttctcttag gtctttcaac gcgtcttccc aacgttcggg atttcgcgag tgatttcttc 720
aggtcca 727

<210> 28

<211> 721

<212> DNA

<213> *Enterococcus saccharolyticus*

<400> 28

tgtcatcaac catgtgggca agtttaatca tgtacattac cccaacagag atacgaccat 60
cgaatggttc acccggtacgt ccgtcataaa gaacagtttt cgcacgcgc gccatgcccg 120
cttcgcgaac tgtttcccat acgtcatcat ctgatgcacc atcaaatact ggtgtagcta 180
catggatgcc taactgacgt gcagccatcc ctaagtgtaa ttccaatact tgtccgatgt 240

tcatacgaga tgggtactcct agtggggttca acatgatatac aactgggtgtg ccgtctggta 300
 agaatggcat gtcttcttctt ggcataatgc gagagacaac ccctttgtta ccatgacgtc 360
 ccgccatttt atctccttcg tgaatcttac gtttttgcac gatataaaca cgaactaaca 420
 tgttcacacc tggagataat tcgtcgcttg cttcacgggt aaagatttta acatcgtgaa 480
 cgataccgcc accgccgtga ggaacacgta atgatgtatc acgtacttca cgtgcttttt 540
 caccgaagat tgcgtgcaat agacgttctt ctgcagataa ttcggttacc cctttaggag 600
 tgactttacc tactaataag tcgccatctt gtacttcggc accgatacgg ataataccca 660
 tttcgtctaa gtcttttaat gcgtcttccc caacgttagg aatttcgcgt gtattcttca 720
 g 721

<210> 29
 <211> 727
 <212> DNA
 <213> *Enterococcus faecium*

<400> 29
 tgtcatcaac catgtgagca agtttgatca tgtacatcac accgacagac acacgtccat 60
 caaatgggttc acctgtacgt ccgtcgtaca gaacagtttt cgcacgctg gccataccgg 120
 cttcacgaac tgtttcccat acgtcttcat cacttgcacc atcaaatact ggcggttgcta 180
 cgtggatacc taactgacgt gcagccatac ccaagtgtaa ttccaatact tgcccgatgt 240
 tcatacgtga aggcaccctt aaaggattca gcatgatatac gattgggtgtt ccatcaggta 300
 ggaatggcat atcttcttcc ggcataatac gggatacaac ccctttatct ccgtgacgac 360
 cggccatttt atcccccttca tggattttac gtttttgaac gatataaaca cgaactaaca 420
 tgtttacgcc tggtgacaat tcatctccag cttcacgagt aaagattttc acatcgtgaa 480
 cgataccgcc gccgccatgt ggtacacgta atgatgtatc gccgacttca cgagcttttt 540
 cgccaaagat cgcattgcaat agacgttctt ctgcagataa ttctgttacc ccttttggcg 600
 tgactttccc tacaagcaaa tcgccatctt ggacttctgc accaatacgg atgataccca 660
 tttcgtctaa atcttttaat gcgtcttccc gacattaggg atttcgcgtg tgattcttcc 720
 aggtcca 727

<210> 30
 <211> 725
 <212> DNA
 <213> *Enterococcus faecalis*

<400> 30

tgtcatcaac catgtgggct aatttaatca tatacatgac accaacggaa atacgggttat 60
 caaatgggtc acctgtacgt ccatcgtaaa gaactgtttt agcatcgcta gccataccag 120
 cttcacgaac agtttcccaa acgtcttcat cggttgcccc atcgaaaaca ggtgttgcca 180
 cgtgaatacc taattggcga gcagccatac ctaagtgtaa ttcaagtact tgtccgatat 240
 tcatacgaga aggtaccctt aatgggttca acatgatatc aacagggtgtt ccgtcaggta 300
 agaatggcat atcttcttcc ggcataatac gggaaacaac ccctttattt ccgtgacgtc 360
 ccgccatttt atctccttcg tgaattttac gtttttgaac gatatagaca cgaactaaca 420
 tgttgacacc tgggtgataat tcatcgccag cttcacgagt aaagattttc acatcatgaa 480
 cgataccgcc gccaccgtga ggtacacgga gagacgtatc acgaacttcg cgggcttttt 540
 ccccgaagat tgcgtgtaat aaacgttctt ctgcagataa ttctgtgacc cctttagggtg 600
 tgactttccc aactagtaag tcgccatctt gaacttcagc accaatgcgg ataatcccca 660
 tttcgtctaa gtctttcaac gcgtcttccc aacgtttgga atttcacggg tattttcttca 720
 ggtca 725

<210> 31
 <211> 570
 <212> DNA
 <213> *Enterococcus avium*

<400> 31
 gtccatcata aagaacggtc ttagcatctg ctgccatacg agcttcacga actgtttccc 60
 aaacatcgct atcttgcgca ccatcgaaga ctgggtgctgc aacatggata cctagttggc 120
 gagccgccat tcccaagtgt aattccaaca cttgtccgat gttcatccga gatggcacac 180
 ctaatgggtt caacatgata tcaactggcg taccgtctgg taagaaaggc atgtcttctt 240
 ctggcataat gcgagaaacg acccctttat ttccgtgacg gccggccatt ttatcccctt 300
 catgaatctt acgtttttgc acgatgtaca cgcgcactaa catatttaca cctggagata 360
 attcatcgcc tgcttcacga gtaaagatct tcacatcgtg aacgatcccg ccgccaccat 420
 gcggtacacg aagagatgta tcacgaactt cacgagcctt ttcaccaaag atcgcatgca 480
 acaaacgttc ttcagctgat aattctgtta cccctttagg agtgacttta ccaactaata 540
 aatcaccatc atgaacttca gcaccaatac 570

<210> 32
 <211> 732
 <212> DNA
 <213> *Abiotrophia defectiva*

<400> 32
gaagttgtca tcaaccatgt gggccaactt aatcatgtac ataaccctaa cagagacttt 60
acgggtcaaat ggttcaccgg ttcgaccatc atataagata gtcttagcgt cagcttctaa 120
gccggcttcc ttaactgttt cccagacatc ttcttcaacta gcaccgtcaa agacaggtgt 180
tgcaatcttg atgcccattt cgcgagcagc catccccaag tgtaactcta ggacttgccc 240
gatgttcata cgggatggaa cccctaattg gttcaacatg atatcaactg gggtagcatc 300
tggtagaagt ggcataatctt cttccggcat gataagggag acaaccctt tgttaccgtg 360
acgaccggcc atcttatccc cttcattgat tttacgtttt tgtacgatgt agacgcggac 420
tagcttggtg acacctgggtg ccaattcgtc gccagcttcg cgggtaaaga ttttaacgtc 480
gtggacaatc ccgccccgc cgtgtggcac acgcaaggaa gtatcacgta cttcacgcgc 540
cttctcaccg aagatagcat ggagcaagcg ttcttcgca gacaactcgg tcacaccttt 600
tggtgttacc ttaccaacta agatatcgcc gtcttttact tccgccccga tacagataat 660
cccgtcttgg tctaagtact tgagggcatc ttccggacacg tttggaattt cgcgtgtaat 720
ttcttcaggt ca 732

<210> 33
<211> 727
<212> DNA
<213> *Gemella morbilorum*

<400> 33
tgtcatcaac catgtgtgca agtttatcat gtacattacc cctacagata cacggctatc 60
aatgggtca cctgtacgtc cgtcataaag aactgtctta gcatctttag ccattccagc 120
ttccgcaact gtagaccaa catcttcac agtagacca tcgaatactg gtgtagctac 180
gtggattcca agttgtttag cagccatacc taagtgtagc tctaatactt gtccaatgtt 240
catacgagat ggaaccctaa gtgggtttta cattacgtca actggtgtac catctggtag 300
gtaaggcata tcttcttctg gtaagatatt tgagataacc cctttgttac cgtgacgacc 360
ggccatttta tctcctacac gaattttacg tttttggacg ataaatacac gaacaagttc 420
atttacaccg ttaggtaatt cagcaccatc ttcacgttta aagattttta catcagcaac 480
tactccatca gcaccgtgag gtacacgtaa tgaagtatca cgtacttctt tagatttagc 540
tccaaagata gcatataata atttttcttc tggagtttgt tcagttaatc ctttcggtgt 600
aactttacct actaaaatat ctccatcttt aacttcagcc ccaatacgaa tgattcctcg 660
tgcatctaag tttctaagtg cattttcacc ctacgtttgg aatctcacga gtaatttctt 720

caggtca 727

<210> 34
 <211> 726
 <212> DNA
 <213> *Gemella haemolysans*

<400> 34
 tgtcatcaac catgtgtgca agtttaatca tgtacattac ccctacagat acacggctat 60
 caaatggctc acctgtacgt ccgtcataaa gaactgtctt agcatcttta gccattccag 120
 cttccgcaac tgtagaccaa acatcttcat cagtagcacc atcgaatact ggtgtagcta 180
 cgtggattcc aagttgttta gcagccatac ctaagtgtag ctctaatact tgtccaatgt 240
 tcatacgaga tggaacccca agtgggttta acattacgtc aactgggtga ccatctggta 300
 ggtaaggcat atcttcttct ggtaagatat ttgagataac ccctttgtta ccgtgacgac 360
 cgcccathtt atctcctaca cgaatthttac gtttttggac gataaataca cgaacaagtt 420
 catthacacc gttaggtaat tcagcaccat cttcacgttt aaagatttta acatcagcaa 480
 ctactocatc agcacctga ggtacacgta atgaagtatc acgtacttct ttagatttag 540
 ctccaaagat agcatataat aatthttctt ctggagtgtt ttcagttaat cctttcgggtg 600
 taactttacc tactaaaata tctccatctt taacttcagc cccaatacga atgattcctc 660
 gtgcatctaa gtttctaagt gcattttcac ctacgtttgg aatctcacga gtattcttca 720
 ggtcca 726

<210> 35
 <211> 719
 <212> DNA
 <213> *Granulicatella adjacens*

<400> 35
 catcaaccat gtgagcaagt ttgatcatgt acataacccc tactgacaca cggttatcga 60
 atggttcccc tgtacgtcca tcatatagaa ttgttttgcg atcacgagcc ataccgctt 120
 ctgcaacagt tccccatacg tcttcatctt gcgcaccatc gaatactggg gttgcgatgt 180
 aaatacctaa ttcacgagca gccatcccta agtgtaactc taacacttgt ccgatgttca 240
 tacgtgaagg taccctaat gggtttaaca tgatgtcaac tgggtgttcca tctggtgaaga 300
 atggcatatc ttcttcgggc ataatacggg aaacaacccc tttattaccg tgacgtccgg 360
 ccatcttata ccttccattg attttacgtt tttgtacaat atatacaga actaatttgt 420
 ttacgccagg tgctaati 1 tcacctgctg caggtgtgaa tacacgtaca tcacggacaa 480

taccgccacc gccgtgaggt acacgtagag atgtgtcacg aacttcacga gctttttcac 540
cgaagattgc gtgtaataaa cgttcctctg gtgattgttc tgttaaccct ttaggagtta 600
ctttaccaac taagatgtca ccattcttaa cttcggcacc gatagaata attccgtctg 660
cgtctagggtt cttcaatgcg tcttcccaac gtttggaaac tcacgagtaa ttcttcagg 719

<210> 36
<211> 21
<212> DNA
<213> amorce

<400> 36
agacggacct tctatggaaa a 21

<210> 37
<211> 20
<212> DNA
<213> amorce

<400> 37
ggacacatac gaccatagtg 20

<210> 38
<211> 21
<212> DNA
<213> amorce

<400> 38
gttgtaacct tcccawgtca t 21

<210> 39
<211> 20
<212> DNA
<213> amorce

<400> 39
gtcttcwtgg gygatttccc 20

<210> 40
<211> 21
<212> DNA
<213> amorce

<220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(8)
<223> n représente i

<400> 40

accgtggngc wtggttirgaa t 21

<210> 41
<211> 20
<212> DNA
<213> amorce

<400> 41
aaccaattcc gyatyggtyt 20

<210> 42
<211> 20
<212> DNA
<213> amorce

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> n représente i

<400> 42
agngggttta acatgatgtc 20

<210> 43
<211> 20
<212> DNA
<213> amorce

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> n représente i

<400> 43
agngcccaaa cctccatctc 20

<210> 44
<211> 21
<212> DNA
<213> amorce

<400> 44
ctccaagtga acagatgtgt a 21

<210> 45
<211> 26
<212> DNA
<213> amorce

<400> 45
ttaccaaact taattgagat tcaaac 26

<210> 46
<211> 22
<212> DNA
<213> amorce

<400> 46
agtatttatg ggtgatttcc ca 22

<210> 47
<211> 26
<212> DNA
<213> amorce

<400> 47
ggacgttata aaatcaacaa aaaatt 26

<210> 48
<211> 23
<212> DNA
<213> amorce

<400> 48
agttataacc atcccaagtc atg 23

<210> 49
<211> 23
<212> DNA
<213> amorce

<400> 49
tgaagtttat catcaaccat gtg 23

<210> 50
<211> 18
<212> DNA
<213> amorce

<400> 50
cccaaaacgt tgtccacc 18

<210> 51
<211> 20
<212> DNA
<213> amorce

<400> 51
aaccaagcyc ggtaggrat 20

<210> 52
<211> 25

<212> DNA

<213> amorce

<220>

<221> misc_feature

<222> (15)..(15)

<223> n représente i

<400> 52

atgttgaacc cactnggggt gccat

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☒ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.